

Schmelzmatrixproteine bei subgingivaler Instrumentierung residualer Taschen

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med. dent.

an der Medizinischen Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von: Christos Paschalis Charalambos Thomaidis
geboren am 13.11.1990 in Henstedt-Ulzburg

angefertigt am: Universitätsklinikum Leipzig AöR
Department für Kopf- und Zahmedizin
Universitätszahnmedizin Leipzig
Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Funktionsbereich Parodontologie

Betreuer: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Jentsch

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 17.11.2020

Gutachter

Erster Gutachter: Prof. Dr. med. dent. Holger A. Jakstat

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Dr. Bernd W. Sigusch

Tag der öffentlichen Verteidigung: 12.10.2020

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
1. Einleitung	2
1.1 Ätiologie und Pathogenese	2
1.2 Risikofaktoren	2
1.3 Risikogene	5
1.4 Klassifikation	8
1.5 Epidemiologie	10
1.6 Therapie	10
1.7 Wundheilung	12
1.8. Parodontale Regeneration	14
1.8.1. Schmelzmatrixproteine - molekulare Mechanismen	14
1.8.2. Schmelzmatrixproteine - klinische Anwendung	17
2. Aufgabenstellung	19
3. Material und Methoden	20
3.1 Erhobene Variablen	21
3.2. biochemische Auswertung	23
3.3. statistische Auswertung	24
4. Ergebnisse	26
4.1. Demographie und Basisdaten	26
4.2. Vergleich der klinischen und biochemischen Variablen zu den Untersuchungszeitpunkten	29
4.2.1 Poweranalyse	32
4.3. Veränderungen der klinischen und biochemischen Variablen - Vergleich und statistische Auswertung	33
4.3.1. klinische Variablen	33
4.3.2. biochemische Variablen	34

5. Diskussion	38
5.1. Therapie der Resttaschen: konservierend versus chirurgisch	38
5.1.1 Klinische Auswirkungen	40
5.1.2. molekularbiologische Auswirkungen	40
5.2. adjunktiver Einsatz von SMP bei Reinstrumentierung residualer Taschen	42
5.2.1. klinische Unterschiede	42
5.2.2 molekularbiologische Unterschiede	45
5.3. Mögliche Limitationen der Studie und kritische Gedanken	47
6. Zusammenfassung der Arbeit	53
7. Literaturverzeichnis	56
Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit	92
Danksagung	93

Abkürzungsverzeichnis

AL	Attachmentlevel
BOP	Bluten auf Sondieren
BMI	Body-Mass-Index
CHX	Chlorhexidin
DMS IV/V	Vierte/Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie
EMD	Emdogain®
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Er:YAG	Erbium-Doped Yttrium Aluminium Garnet
FMPS	Full Mouth Plaque Score
GCF	Gingivale Sulkusflüssigkeit
HbA _{1c}	Glykiertes Hämoglobin
IFN	Interferon
IL	Interleukin
OPG	Osteoprotegerin
PD	Taschentiefe
PS	Plaque Score
PMN	Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor-κB
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor-κB Ligand
SMP	Schmelzmatrixproteine
SRP	Scaling and Root Planing
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
TNF	Tumornekrosefaktor
TGF	Transforming Growth Factor

1. Einleitung

1.1 Ätiologie und Pathogenese

Die Parodontitis ist eine entzündliche Erkrankung, welche durch die Zerstörung der zahntragenden Gewebe, Desmodont, Zement, Knochen und Weichgewebe, charakterisiert ist (Cheng et al. 2017, Kinane 2001, Listgarten 1986). Kardinalsymptom ist die Entstehung einer sogenannten parodontalen Tasche, welche sich durch einen Spaltraum zwischen den Epithelien des Desmodonts und dem umliegenden Gewebe definiert. Initiator für die Entstehung der Parodontitis ist ein mikrobieller Biofilm, welcher zunächst in Symbiose mit seinem Träger steht (Meyle und Chapple 2015), d.h. es besteht eine für beide Seiten vorteilhafte Beziehung (Sanz et al. 2017). Bei fehlender regelmäßiger Entfernung des Biofilmes akkumuliert dieser und fördert bakterielle Spezies, welche eine immunologische Wirtsantwort hervorrufen. Diese ist zunächst noch angemessen, führt also nicht zur Zerstörung des Parodontiums (Lamont und Hajishengallis 2015). Wird der Biofilm nicht regelmäßig entfernt, unterhält dieser einen dysbiotischen, entzündlichen Zustand: Mikroben, die gesundheitsfördernd sind, indem sie die Entwicklung physiologischer parodontaler Gewebe unterstützen und den Wirt schützen, werden zugunsten von krankheitsfördernden Mikroben verdrängt (Roberts und Darveau 2015, Sanz et al. 2017). Diese sind darauf ausgerichtet, sowohl dem entzündlichen Milieu zu widerstehen, als auch dieses zu fördern. Es entsteht somit ein Teufelskreis, der eine unangemessene Immunantwort bedingt, welche letztlich zur parodontalen Zerstörung führt (Hajishengallis 2014, Lamont und Hajishengallis 2015, Meyle und Chapple 2015).

1.2 Risikofaktoren

Der pathogene Biofilm ist für die Entwicklung der Parodontitis notwendig, jedoch nicht alleiniger Verursacher der Erkrankung (Darveau 2010, Meyle und Chapple 2015). Somit betrifft die Parodontitis nur eine Teilmenge der Population; parodontal gesunde Individuen können ebenso Träger parodontalpathogener Keime sein, ohne zu erkranken (Camelo-Castillo et al. 2015). Die Pathogenität der Parodontitis wird durch verschiedene Risikofaktoren bestimmt, die modifizierbar oder nicht modifizierbar sind

(Knight et al. 2016, Page und Kornman 1997). Vor allem Ansammlungen von Plaque in Verbindung mit schlechter Mundhygiene gelten als Hauptrisikofaktoren (Lertpimonchai et al. 2017). Im Zusammenhang zum Biofilm sind sogenannte Risikokeime zu nennen: vor allem die zum ‚roten Komplex‘ gehörigen Bakterien *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola* werden mit einem erhöhten Risiko für parodontale Erkrankungen assoziiert (Darveau 2010, Hajishengallis und Lamont 2012). Diese sind in der Lage, der Immunantwort zu entgehen und somit die Pathogenität des gesamten Biofilms zu steigern; außerdem können diese den dysbiotischen Zustand stärken, indem sie durch die Expression von Rezeptoren, Liganden, Adhesinen und anderen Molekülen die Immunantwort sukzessive fördern (Hajishengallis und Lamont 2012). Dabei kommt weniger einzelnen Keimen, sondern mehr deren Interaktion innerhalb der mikrobiellen Gemeinschaft eine Pathogenität zu (Hajishengallis und Lamont 2012).

Zu den modifizierbaren Faktoren, auch Life Style Faktoren genannt, gehören der Tabakkonsum, ein schlecht eingestellter Diabetes mellitus, das metabolische Syndrom sowie Fettleibigkeit, Osteoporose, unausgewogene Ernährung und Stress. Zu den nicht modifizierbaren gehören das Geschlecht, familiäre Häufungen und genetische Polymorphismen (Genco und Borgnakke 2013).

Der Tabakkonsum stellt einen wichtigen Risikofaktor im Rahmen der Pathogenese der Parodontitis dar (Heasman et al. 2006). So sind Raucher anfälliger, an Parodontitis zu erkranken, neigen zu schwereren und stärker progredienten Krankheitsverläufen, sprechen schlechter auf Therapien an und verlieren folglich mehr Zähne als Nicht-Raucher (Nociti et al. 2015). Die Ausscheidung proinflammatorischer Zytokine wird gefördert, während die Zellen des Immunsystems und die der Wundheilung in ihrer Funktion gestört sind (Kamma et al. 2004). Das subgingivale Mikrobiom erscheint weniger divers; stark parodontal-pathogene Keime sind vermehrt vorzufinden, sowohl in flachen, als auch in tiefen Taschen (Haffajee und Socransky 2001). Ein Einstellen des Rauchens wirkt sich positiv auf das Auftreten einer Parodontitis, die Parodontitistherapie und die parodontale Wundheilung aus (Fiorini et al. 2014, Rosa et al. 2014). Ebenso konnte ein geringeres Risiko für Zahnverluste nach Raucherentwöhnung beobachtet werden (Dietrich et al. 2015).

Zwischen Diabetes mellitus und Parodontitis besteht ein bidirektionaler Dualismus: erhöhte Blutglukosespiegel werden mit einer erhöhten Parodontitisprävalenz assoziiert (Katz et al. 2000, Shlossman et al. 1990), Diabetiker weisen signifikant erhöhte mittlere Taschentiefen und Attachment-Verluste auf als Nicht-Diabetiker (Khader et al. 2006). Wiederum zeigen Individuen mit schlechtem Parodontalzustand erhöhte Werte glykiertem Hämoglobins (HbA_{1c}) (Demmer et al. 2010). Patienten, die von beiden Krankheiten betroffen sind, sprechen schlechter auf die Therapie des Diabetes an und besitzen ein erhöhtes Risiko, an kardiovaskulären und renalen Krankheiten zu erkranken (Genco und Borgnakke 2013). Die Therapie der Parodontitis kann sich positiv auf den Blutglukosespiegel der Diabetiker auswirken (Simpson et al. 2015).

Patienten, die übergewichtig sind oder an Adipositas leiden, erkranken überdurchschnittlich häufig an Parodontitis (Dalla Vecchia et al. 2005, Saito et al. 1998) und zeigen einen schwereren Krankheitsverlauf (Haffajee und Socransky 2009). Dies wurde u. a. auf einen permanent erhöhten Entzündungszustand zurückgeführt: Der Body-Mass-Index (BMI) als Indikator für ein stark erhöhtes Körpergewicht und Tumornekrosefaktor (TNF)- α als Entzündungs-Mediator korrelieren miteinander (Lundin et al. 2004). So wirkt sich die Ernährung der Patienten auf deren parodontalen Zustand aus (Chapple 2009). Eine Diät, die überwiegend aus pflanzlicher und ausgewogener Nahrung bestand und prozessierte, reich an Einfachzuckern haltige vermied, konnte bei Patienten, die an dem metabolischem Syndrom und chronischer Parodontitis litten, eine Verringerung der klinischen sowie molekularen Entzündungsparameter bewirken (Jenzsch et al. 2008). Immunzellen werden positiv von Vitamin D beeinflusst, da die Sekretion proinflammatorischer Mediatoren, wie Interleukin (IL)- 1β , IL-8, TNF- α und Interferon (IFN)- γ , gehemmt und die entzündungshemmender, wie IL-10, gefördert wird (Hoe et al. 2016).

Männer erkranken häufiger als Frauen, da sich geschlechtsspezifische Hormone auf die IL- 1β - und TNF- α -Level entzündlicher Gewebe auswirken (Shiau und Reynolds 2010). Der sozioökonomische Status der Individuen stellt einen weiteren Risikofaktor dar: je niedriger Bildungsniveau und Einkommen, desto höher Progression der parodontalen Knochen- sowie Zahnverluste (Buchwald et al. 2013). Psychosoziale Faktoren wie Stress oder Depressionen wirken sich ebenfalls als erhöhtes Risiko für

schwere Krankheitsverläufe aus (Genco et al. 1999).

Immun- und Entzündungsantwort des Individuums sind bei der Pathogenese der Parodontitis mitentscheidend. Die Interaktion dieser Antworten mit dem oralen Biofilm macht eine parodontale Zerstörung erst möglich (Kinane 2001, Meyle und Chapple 2015, Tettamanti et al. 2017). Zytokine und Proteasen, wie IL-1- β , IL-6, IL-10, Transforming Growth Factor (TGF)- β und Matrixmetalloproteinase (MMP)-8, werden als Immunantwort auf bakterielle Erreger und ihre Stoffwechselprodukte von Leukozyten und Osteoblasten, aber auch epithelialen, desmodontalen und dendritischen Zellen freigesetzt (Trindade et al. 2014). So wird die Entzündungsreaktion ausgelöst und aufrechterhalten (Baker et al. 2000, Birkedal-Hansen 1993, Gamonal et al. 2000). Das Immunsystem interagiert mit der Homöostase des Knochens: das Gleichgewicht zwischen Knochenauf- und abbau durch Osteoblasten bzw. Osteoklasten wird direkt durch die Zytokine verändert bzw. gestört und resultiert in der Apikalwanderung des Saumepithels, der Ausbildung parodontaler Taschen, der Zerstörung von Bindegewebe und Knochen sowie letztlich im Zahnverlust (Baker et al. 2000, Kinane 2001, Trindade et al. 2014).

1.3 Risikogene

Es existieren Gene des angeborenen Immunsystems und deren genetischen Varianten, die im Rahmen der veränderten Immun- und Entzündungsreaktion eine Rolle für das Risiko an Parodontitis zu erkranken spielen (Laine et al. 2012, Laine et al. 2013, Zupin et al. 2017). Besonders bei jüngeren Patienten, die von aggressiven Formen der Parodontitis betroffen sind, spielt das genetische Risiko eine größere Rolle als bei älteren, von chronischen Formen betroffenen Patienten. Obwohl bei letzteren der subgingivale Biofilm und weitere modifizierbare Risikofaktoren eine übergeordnete Rolle im Krankheitsverlauf einnehmen, wird auch für die chronische Parodontitis ein genetisches Risiko von ungefähr 25% genannt (Loos et al. 2015).

IL-1- β ist ein entzündungsförderndes Zytokin, welches Knochenresorptionen induzieren und MMP stimulieren kann; IL-1- β ist damit für parodontale Schäden

mitverantwortlich (Hönig et al. 1989, Graves und Cochran 2003). Entscheidend ist hierbei, in welchem Ausmaß das Zytokin vorliegt. So ist IL-1- β in mittleren und hohen Konzentrationen für Knochenresorptionen verantwortlich, indem es die Anzahl von Osteoklasten erhöht und die Kollagensynthese inhibiert. In niedrigen wiederum führt IL-1- β zur Knochenformation durch Stimulierung der Proliferation von Osteoblasten und der Kollagensynthese (Baker et al. 2000). Bestimmte Allele der IL-1-Gene (IL-1-A und IL-1-B) konnten mit einer Prädisposition für die schwere chronische Parodontitis assoziiert werden, wenn beide in einem Individuum genetisch präsent sind. Bei diesen werden erhöhte Spiegel von IL-1- β als Antwort auf bakterielle Lipopolysaccharide verzeichnet, die wiederum eine verstärkte Entzündungsantwort bedingen (McDevitt 2000, Greenstein und Hart 2002). Eine andere Untersuchung konnte diesen genetischen Zusammenhang zur chronischen Parodontitis nicht bestätigen; es wurde jedoch betont, dass Schweregrad der Erkrankung und Antikörper-Reaktion mit Polymorphismen am IL-1- β -Gen korrelierten (Papapanou et al. 2001).

IL-10 gehört zu den antiinflammatorisch wirkenden Zytokinen, indem es die Präsentation von Antigenen reduziert und die Aktivierung von T-Zellen inhibiert. Hiermit wird einerseits eine überschießende und damit schädliche Immunantwort verhindert, andererseits wird die Wundheilung erleichtert (Grütz 2005, Ouyang et al. 2011) und der Knochenabbau durch Inhibition der Genexpression von IL-1 vermindert (Baker et al. 2000). Entsprechend kann bei erhöhten parodontalen Entzündungszeichen ein verminderte Menge an IL-10 gemessen werden (Passoja et al. 2010). Polymorphismen des IL-10 Genes konnten mit einer erhöhten Anfälligkeit für die Entwicklung einer chronischen wie auch aggressiven Parodontitis in Verbindung gebracht werden und stellen damit einen weiteren parodontalen Risikofaktor dar (Scarel-Caminaga et al. 2004, Sumer et al. 2007, Wong et al. 2018).

TGF- β gehört zur Familie der Polypeptid-Wachstumsfaktoren, ist an Vorgängen wie Entzündungsreaktion, Immunantwort und Wundheilung beteiligt und kann ebenfalls antiinflammatorisch wirken (Skalerič et al. 1997). Das Zytokin wird von Thrombozyten und Leukozyten sezerniert und hat stark chemotaktische Eigenschaften. Es stimuliert entsprechende Immunzellen zur Produktion weiterer Zytokine, die wiederum zur parodontalen Destruktion beitragen (Wahl et al. 1993). Es konnten höhere Spiegel an TGF- β in tiefen Taschen nachgewiesen werden (Skalerič et al. 1997, Gürkan et al.

2006). Nach Inhibition von TGF- β durch neutralisierende Antikörper konnten Chemotaxis, Aktivierung von Immunzellen und damit eine parodontale Destruktion aufgehalten werden (Wahl et al. 1993). Erhöhte Konzentrationen an TGF- β können wiederum die Expression von IL-1- β herabregulieren (Dubois et al. 1990). TGF- β besitzt damit ähnlich IL-1- β eine doppelte Rolle im Bezug auf Wundheilung und Wundentstehung: bei erhöhten, länger bestehenden Konzentrationen wirkt sich das Zytokin negativ auf die Wundheilung aus (Wang et al. 2006). Entsprechend wurden Polymorphismen von TGF- β als parodontale Risikofaktoren eingestuft (Cui et al. 2015). Bei Rauchern, die nach parodontaler Therapie eine geringere Verbesserung der klinischen Variablen im Gegensatz zu Nichtrauchern aufwiesen, konnte eine erhöhte Konzentration von TGF- β in gingivaler Sulkusflüssigkeit (GCF) nachgewiesen werden (Stein et al. 2004).

Neben den Zytokinen spielt die Enzymgruppe der MMP eine Rolle bei der Pathogenese der Parodontitis. MMP-8 (auch Kollagenase-2 genannt) wird von polymorphkernigen Granulozyten (PMN) freigesetzt (Karima und Van Dyke 2012) und ist durch ihre hohe Affinität zu Typ I Kollagen des parodontalen Gewebes vor allem für die Gestaltung der hiesigen extrazellulären Matrix verantwortlich (Gursoy et al. 2013). MMP-8 steht in Assoziation zu dem Enzym Elastase, das wiederum mit Schweregrad und Aktivität parodontaler Erkrankung in Verbindung gebracht wurde (Chen et al. 2000). Damit nimmt auch MMP-8 eine Hauptrolle in der Zerstörung extrazellulärer Matrix und damit parodontaler Gewebe ein (Sorsa et al. 2011). Die Expression der MMP wird von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1- β und TNF- α gefördert, von TGF- β überwiegend gehemmt (Birkedal-Hansen 1993). Wird das Gleichgewicht zwischen MMP und Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (TIMP) zugunsten der MMP gestört, resultiert ein pathologischer Zustand mit unkontrolliertem Abbau von extrazellulärer Matrix, Gewebeumbau und Entzündungszuständen (Maciejczyk et al. 2016). Raucher, die an chronischer Parodontitis erkrankt sind, weisen niedrigere Level an TIMP auf (Özçaka et al. 2011). MMP-8 ist als Biomarker für parodontale Krankheitsverläufe nutzbar (Akbari et al. 2013): über einen Chair-Side-Test als MMP-8 positiv befundene Individuen mit parodontalen Läsionen konnten mit genetischen Polymorphismen der MMP-8 in Verbindung gebracht werden (Heikkinen et al. 2017). Polymorphismen von MMP-8 und TIMP-1 sind vermutlich mit dem Erkranken an einer generalisiert aggressiven Parodontitis verbunden (Emingil et al. 2014), andere

Polymorphismen der MMP-8 mit Verlusten von Zahnimplantaten (Costa-Junior et al. 2013). Da MMP im gesamten Organismus aktiv sind, konnte eine Korrelation zwischen erhöhten Spiegeln an MMP-8 und kardiovaskulären Erkrankungen (Tuomainen et al. 2007), rheumatoider Arthritis (Bıyıkoglu et al. 2009) oder Diabetes Mellitus (Safkan-Seppälä et al. 2006) beobachtet werden. An Diabetes mellitus und chronischer Parodontitis erkrankte Patienten weisen einen Synergismus zwischen HbA_{1c}- und MMP-8-Leveln auf (Hardy et al. 2012).

1.4 Klassifikation

Der Parodontitis geht eine Gingivitis voraus (Chapple et al. 2015). Diese ist reversibel und kann von Faktoren wie systemischen Erkrankungen oder Medikationen beeinflusst werden, wobei sich die klinischen Entzündungszeichen auf die Gingiva beschränken (Murakami et al. 2018). Eine Gingivitis mündet dabei nicht zwingend in eine Parodontitis (Brown und Loe 1993, Graves et al. 2011).

Es werden unterschiedliche Parodontitiden unterschieden, die von Armitage 1999 klassifiziert wurden. Zu diesen zählen die chronische und die aggressive Parodontitis, wobei erstere die größte epidemiologische Relevanz besitzt (Kassebaum et al. 2014). Beide Erkrankungen unterscheiden sich hauptsächlich auf klinischer Ebene. So zeigen sich aggressive Parodontitiden vor allem bei jüngeren Patienten und progredieren schneller als chronische, wobei die Entzündungszeichen wie Blutungen und Knochenabbau nicht mit der Menge an Plaque und Konkrementen korrelieren müssen (Armitage und Cullinan 2010). Klinisch erscheinen die Patienten neben der Parodontitis gesund (Albandar 2014). Histo- und immunpathologisch können keine aussagekräftigen Unterschiede zwischen chronischer und aggressiver Parodontitis festgestellt werden (Smith et al. 2010), mikrobiologische Unterschiede erscheinen ebenfalls nicht aussagekräftig (Armitage 2010, Kerschull et al. 2013). Die Risikofaktoren für chronische und aggressive Parodontitis unterscheiden sich nur geringfügig (Stabholz et al. 2010).

Die Einteilung der Parodontitiden erfolgte in dieser Untersuchung unter Verwendung

der nach wie vor in der klinischen Praxis angewandten Klassifizierung von Armitage (Armitage 1999). 2018 wurde ein neues System vorgestellt (Caton et al. 2018), welches im Laufe der nächsten Zeit die bisherige Klassifizierung ersetzen soll. Hierbei wurden chronische und aggressive Parodontitiden unter einem Begriff zusammengefasst und die Schwere mittels Stagingkriterien sowie die Progressionsrate mittels Gradingkriterien in die Diagnosefindung miteinbezogen. Stadium I entspricht einer initialen, Stadium II einer moderaten, Stadium 3 einer schweren Parodontitis. Grad A, B und C diskriminieren langsame, mittlere und schnelle Progressionsraten.

Die Literatursauswertung und Diskussion fanden auf Basis der bisherigen Klassifikation statt, da eine Umrechnung in die neue nur schwer zu realisieren wäre und zu Fehlinterpretationen führen könnte. Auswirkungen auf die Ergebnisse und Auswertungen sind hierbei nicht zu erwarten.

1.5 Epidemiologie

Im Rahmen der Fünften Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS V) wurde in den Jahren 2013 und 2014 die Prävalenz der Parodontitis in Deutschland untersucht.

Die DMS V ergab, dass diese Prävalenz abnimmt, was auf eine Verstärkung der präventiven Maßnahmen zurückgeführt wurde. Auch die Ausprägung des Schweregrades der Parodontitiden ist dadurch zurückgegangen. Dieser Trend ist gegenläufig zu den Ergebnissen der DMS IV 2005. Dennoch betreffen parodontale Erkrankungen jeden zweiten jüngeren Erwachsenen zwischen 35 und 44 Jahren. Von diesen sind 43,4 % moderate und 8,2 % schwere Parodontitiden. Bei den Senioren zwischen 65 und 74 Jahren zeigen 44,8% eine moderate und 19,8 % eine schwere Parodontitis. Im Rahmen des demographischen Wandels, durch den mit Senioren als Großteil der Bevölkerung zu rechnen ist, kann hierbei mit einer Zunahme der Parodontitis innerhalb der deutschen Bevölkerung gerechnet werden (Jordan et al. 2014).

1.6 Therapie

Eine unbehandelte Parodontitis kann zu vollständigem Zahnverlust führen (Löe et al. 1986). Bereits bei einem Knochenabbau von ≥ 30 % zeigen betroffene Individuen eine erhebliche Einschränkung ihrer Lebensqualität (Jansson et al. 2014). Die Parodontistherapie setzt sich zum Ziel, die natürliche Bezahnung zu erhalten, indem das Parodontium stabilisiert wird (Plessas 2014). Dies beinhaltet der American Academy of Periodontology zufolge eine Reduktion der bakteriellen Plaque und ihrer Produkte und damit des Entzündungszustandes, die Korrektur der parodontitis-induzierten Defekte und die Regeneration der verloren gegangenen parodontalen Gewebe. Letztere, die parodontale Regeneration, ist dabei Hauptziel der Therapie (Morand et al. 2017).

Das Scaling and Root Planing gilt nach wie vor als Goldstandard, um die Progression der parodontalen Zerstörung aufzuhalten und Zahnverluste zu verhindern (Cobb 2002,

Cobb 2008, Octavia et al. 2018, Plessas 2014, Sanz et al. 2012). Ziel ist hierbei die Eliminierung des subgingivalen Biofilmes durch den professionellen Einsatz von Hand- und Ultraschallinstrumenten (Van der Weijden und Timmermann 2002, Laleman et al. 2017).

Die klinischen Variablen Taschentiefe (PD), Attachmentlevel (AL) und Bluten auf Sondieren (BOP) stellen je nach Ausmaß die Indikation zur parodontalen Therapie (Armitage 1999, Armitage 2004, Tonetti et al. 2018). Im Zuge des SRP kann die Ausprägung dieser Variablen reduziert werden (Trombelli et al. 2010, Van der Weijden und Timmerman 2002). Dieser Effekt ist bezüglich PD und AL von deren Ausgangswerten abhängig: im Mittel erfahren parodontale Taschen mit einer PD von 4 - 6 mm nach SRP eine Taschentiefenreduzierung von 1 mm und einen Attachmentgewinn von 0,5 mm. Taschen mit einer PD von über 7 mm eine Taschentiefenreduzierung von 2 mm und einen Attachmentgewinn von mehr als 1 mm. Taschen mit einer PD von weniger als 3 mm sollten dabei nicht instrumentiert werden, da nicht nur die Taschentiefenreduzierung minimal ausfallen würde, sondern weitere Attachmentverluste resultieren können (Hung und Douglass 2002). Andere Quellen sprechen sich gegen eine Instrumentierung von Taschen mit PD kleiner 3,5 mm, die frei von BOP sind, aus (Claffey und Shanley 1986), weitere gegen eine Instrumentierung von Taschen mit PD kleiner 4 mm (Plessas 2014). Taschen mit einer PD von bis zu 3 mm können durch professionelle und patienteneigene Mundhygiene stabilisiert werden (Petersilka 2002). Außerdem kann ein SRP das Auftreten BOP positiver Taschen reduzieren (Cugini et al. 2000, Trombelli et al. 2010).

Weitere Effekte des SRP sind die Reduktion von pathologischen Keimen wie *Porphyromonas gingivalis* in den parodontalen Taschen (Cugini et al. 2000, Eick et al. 2017, Octavia et al. 2018) und Entzündungsmediatoren wie IL-1- β und MMP-8 (Konopka et al. 2012). Die Reduktion des Entzündungszustandes nach parodontaler Therapie geht einher mit der Reduktion der Zytokinausschüttung (Gamonal et al. 2000).

Nach SRP können Resttaschen verbleiben (Jenkins et al. 2000, Villar und Cochran 2010, Graziani et al. 2017), da es unmöglich ist, die subgingivalen bakteriellen Kolonien vollständig zu entfernen (Stańdo und Lewkowicz 2019). Die Gründe hierfür

sind vielfältig: es werden hierbei die primäre Taschentiefe sowie die Entfernung der subgingivalen Beläge von der Schmelz-Zement-Grenze oder auch die Anatomie der Wurzeloberfläche und die klinisch-therapeutische Erfahrung des Behandlers angegeben (Deas et al. 2016). Resttaschen repräsentieren eine unvollständige Parodontaltherapie und stellen somit einen Risikofaktor für die weitere Progression der Krankheit dar (Villar und Cochran 2010, Graziani et al. 2017). Als Folgetherapie sind sowohl chirurgische als auch nicht-chirurgische bzw. konservierende Verfahren in Betracht zu ziehen (Dentino et al. 2013, Graziani et al. 2017, Heitz-Mayfield et al. 2002, König et al. 2008).

1.7 Wundheilung

Die durch das SRP entstehenden parodontalen Wunden heilen prinzipiell nach den gleichen Mechanismen ab wie nicht-orale Wunden (Aukhil 2000, Polimeni et al. 2006), wobei die orale Mukosa weniger narbig ausheilt als das Gewebe der Haut (Sculean et al. 2014). Es werden dabei verschiedene Phasen der Wundheilung unterschieden (Sculean et al. 2014). Diese finden jedoch nicht distinktiv getrennt voneinander, sondern einander zeitlich überlappend statt (Clark 1996).

In der hämostatischen Phase kommt es direkt nach Trauma zunächst zur Einblutung durch Beschädigung der Kapillargefäße und zur Bildung eines Blutkoagulums durch Reaktion der einfließenden Blutplättchen mit anderen Zellen, wie PMN und Erythrozyten (Polimeni et al. 2006, Sculean et al. 2014). Dieses Koagulum soll zunächst die eröffneten Gefäße abdichten, die traumatisierte Fläche bedecken und schützen sowie als provisorische extrazelluläre Matrix für die spätere Zellmigration dienen (Clark 1996). Das Koagulum enthält neben Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten ein Netzwerk aus Proteinen, die für die Zelladhäsion nötig sind, wie Fibrin, Plasmafibronektin, Vitronektin und Thrombospondin (Martin 1997). Die Entstehung des Koagulums ist außerdem das Signal für inflammatorische Zellen, das traumatisierte Areal zu betreten (Sculean et al. 2014).

Die frühe inflammatorische Phase folgt der hämostatischen (Polimeni et al. 2006).

Innerhalb von Stunden besiedeln Immunzellen wie PMN und Monozyten das Koagulum und reinigen dieses von Fremdkörpern und Bakterien (Aukhil 2000, Polimeni et al. 2006). PMN sezernieren dabei proinflammatorische Zytokine (Aukhil 2000), Enzyme wie MMP-8 (Karima und Van Dyke 2012) und toxische Sauerstoffradikale (Clark 1996). Die Zerstörung des parodontalen Gewebes steht damit im Zusammenhang zu der zu eliminierenden bakteriellen Last (Aukhil 2000). Innerhalb von 3 Tagen migrieren Makrophagen in das Wundgebiet (Polimeni et al. 2006). In dieser späten inflammatorischen Phase werden durch Phagozytose die PMN entfernt (Clark 1996) und das Wunddébridement realisiert (Polimeni et al. 2006). Weiterhin synthetisieren Makrophagen Zytokine und Wachstumsfaktoren wie TGF- β (Aukhil 2000).

Die proliferative Phase ist primär durch die Entstehung des Granulationsgewebes charakterisiert (Sculean et al. 2014). Durch die von Makrophagen sezernierten Botenstoffe migrieren Fibroblasten, Epithel- und Endothelzellen in das Wundgebiet (Polimeni et al. 2006, Sculean et al. 2014). Fibroblasten bilden eine neue kollagenreiche Matrix, wonach sich ein Teil der Fibroblasten zu Myofibroblasten differenziert; es kommt zur Wundkontraktion (Polimeni et al. 2006) und damit zum Annähern der Wundenden (Sculean et al. 2014). Endothelzellen sind für die Bildung von Kapillaren innerhalb der provisorischen Matrix verantwortlich (Polimeni et al. 2006, Sculean et al. 2014). Die Re-Epithelialisierung der Wunde wird durch Keratinozyten realisiert, welche Integrine als Oberflächenrezeptoren nutzen, um an die Basalmembran über Laminin zu binden (Aukhil 2000). Dies führt zu einer Wanderung und Proliferation der Epithelzellen und damit zum Schluss des Epitheldefektes (Polimeni et al. 2006). Die vollständige Epithelialisierung der parodontalen Tasche ist nach 2 Tagen vollzogen, ein neues epitheliales Attachment kann nach 4 – 5 Tagen beobachtet werden; je nach Schwere der Entzündung und Tiefe des Defektes dauert die epitheliale Ausheilung bis zu einer Woche (Hieda et al. 2017).

Die letzte Phase des Remodelling zeichnet sich durch die Apoptose der meisten Zellen innerhalb des Wundverbandes aus, wodurch ein zell- sowie gefäßarmes und kollagenreiches Narbengewebe zurückbleibt (Sculean et al. 2014).

1.8. Parodontale Regeneration

Die Ausheilung des parodontalen Defektes entspricht in der Regel einem Reparaturmechanismus und ist nicht mit Regeneration gleichzusetzen. Parodontale Regeneration definiert sich als vollständige anatomische und funktionelle Wiederherstellung der zerstörten Gewebe, während ‚Repair‘ eine reparative Ausheilung durch Entstehung eines langen Saumepithels meint (Bosshardt und Sculean 2009). Hierbei wachsen die epithelialen Zellen in Richtung des Defektes nach apikal und verhindern die Ausbildung eines neuen Faserapparates und Knochens im Sinne eines Reattachments (Vaquette et al. 2018). Um parodontale Regeneration zu erzielen, müssen Vorläuferzellen des Desmodonts gemeinsam mit ossären Vorläuferzellen die Wurzeloberfläche besiedeln und dort zu einem Fasergewebe reifen, welches sich wiederum an das neue Wurzelzement anheftet (Ivanovsky 2009). Gingivale Zellen und die des alveolären Knochens besitzen im Gegensatz zu desmodontalen Zellen dieses Potential nicht (Nyman et al. 1980, Gottlow et al. 1986, Ivanovsky 2009). Parodontale Regeneration kann nicht klinisch, sondern nur histologisch vollständig dargestellt werden (Ivanovski 2009). Findet die parodontale Regeneration an einer Wurzeloberfläche statt, die ihr Desmodont verloren hat, wird von einem „New Attachment“ gesprochen (Ivanovsky 2009). Reattachment („Wiederanheftung“) wiederum wird der American Academy of Periodontology zufolge als Wiedervereinigung von epithelialen und bindegewebigen Fasern nach mechanischer Manipulation oder Trauma definiert (American Academy of Periodontology 2001).

Schmelzmatrixproteine (SMP) unter dem Handelsnamen Emdogain® (EMD) (Institut Straumann, Basel, Schweiz) werden regenerativ eingesetzt und von der Firma Straumann vertrieben (Miron et al. 2014).

1.8.1. Schmelzmatrixproteine - molekulare Mechanismen

SMP imitieren die biologischen Prinzipien der embryonalen Entwicklung des Desmodonts und des alveolären Knochens über die epitheliale Wurzelscheide

(Hertwig'sche Epithelscheide) (Hammarström et al. 1997): Mesenchymzellen werden durch SMP dazu angeregt, sich zu Zementoblasten zu differenzieren und die Synthese von Kollagen und azellulärem Zement zu fördern, wodurch letztendlich Desmodont und alveolärer Knochen entstehen (Hammarström 1997, Heijl 1997, Gestrelus et al. 2000). Durch Behandlung parodontaler Defekte mit SMP wird die Neubildung von azellulärem Zement, Sharpey'schen Fasern, Desmodont und Knochengewebe koronal der Defektbasis stimuliert (Cochran et al. 2003). Eine Behandlung mit SMP kann demzufolge in einer echten parodontalen Regeneration resultieren (Sculean et al. 2000, McGuire et al. 2016). Klinisch ist es möglich, einen Attachmentgewinn und röntgenologisch eine Zunahme von Knochensubstanz zu beobachten (Beresescu et al. 2017, Sculean et al. 1999, Tirone und Salzano 2016). Propylenglykolalginat dient den SMP als effektive Trägersubstanz (Gestrelus et al. 1997, Hammarström et al. 1997). Beide Substanzen wirken antibakteriell (Bosshardt 2008, Karima und Van Dyke 2012, Nalawade et al. 2015, Olitzky 1965). SMP beeinflussen dabei die Zusammensetzung der bakteriellen Flora der Wunde positiv, indem vor allem das Wachstum gram-negativer Bakterien eingeschränkt wird (Spahr et al. 2002).

SMP setzen sich hauptsächlich aus Amelogeninen zusammen, welche embryonalen porzinen Zahnkeimen entnommen werden (Heijl 1997). Amelogenine sind evolutionstechnisch hoch konserviert, was zur Toleranz bezüglich interspezieller Anwendungen beiträgt; prinzipiell gilt die Anwendung bei menschlichen Individuen als immunologisch unbedenklich und sicher (Hagenaars et al. 2004, Hammarström 1997, Miron et al. 2016, Zetterström et al. 1997). Amelogenine formen eigenständig molekular übergeordnete Zellaggregate (Fincham et al. 1994), die sich an Hydroxylapatit und Kollagen anlagern (Gestrelus et al. 1997). Somit wird eine extrazelluläre Matrix mit hydrophober Oberfläche gebildet, die mit anderen anliegenden Zellen, vermutlich integrin-vermittelt (Bosshardt 2008), interagieren kann (Hammarström et al. 1997, Lyngstadaas et al. 2009).

Es wurde zusammengefasst, dass hierbei das Zellattachment von epithelialen Zellen, gingivalen und desmodontalen Fibroblasten sowie die Chemotaxis endothelialer Zellen gefördert werden (Bosshardt 2008). Weiterhin werden vorrangig desmodontale Fibroblasten zur Proliferation angeregt, während epitheliale Zellen zytostatisch werden (Kawase et al. 2001). Diese Zusammenhänge wurden bestätigt, da SMP

nachgewiesenermaßen das mesenchymale dem epithelialen Zellwachstum vorziehen und über Biomimikry desmodontale Zellen zur parodontalen Regeneration anregen (Suzuki et al. 2005). Weiterhin wurde gezeigt, dass je niedriger der Grad der Ausreifung von Vorläuferzellen der Knochensynthese ausgeprägt ist, desto mehr werden diese von SMP zur Differenzierung angeregt (Bosshardt 2008). SMP wirken sich positiv auf die Wundheilung aus, da Zellproliferation und -migration entsprechender Zellen sowie die Angiogenese gefördert werden (Villa et al. 2016).

Weiterhin wurde beschrieben, dass Transkriptionsfaktoren zur Expression von Chondroblasten, Osteoblasten und Zementoblasten im Rahmen einer verstärkt stattfindenden Proteinbiosynthese vermehrt ausgebildet werden; ebenso Wachstumsfaktoren, wie TGF- β , Zytokine wie IL-6 und IL-8, und Makromoleküle, wie MMP-2, die für die Ausbildung der extrazellulären Matrix wichtig sind, während die MMP-8 vermittelte Gewebedestruktion unterdrückt wird (Bosshardt 2008, Karima und Van Dyke 2012). Schlussfolgerlich wird auf genetischer Ebene der entzündliche Charakter der frühen Wundheilung gehemmt, der reparative gefördert (Bosshardt 2008).

Letztlich beeinflussen SMP indirekt den Knochenumbau über den Rezeptor Activator of Nuclear Factor- κ B (RANK), dessen Liganden Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B (RANKL) und Osteoprotegerin (OPG). Durch den Rezeptor RANK, der durch Osteoklasten und deren Vorläufer exprimiert wird, und RANKL, welcher Knochenmarkszellen, Osteoblasten und Fibroblasten entspringt, wird die Differenzierung und Aktivität von Osteoklasten reguliert. OPG, dessen zellulärer Ursprung ähnlich dem der Osteoblasten ist, kann kompetitiv RANKL verdrängen und so die Aktivität der Osteoklasten hemmen. Schmelzmatrixproteine hemmen die Expression von RANKL und fördern die von OPG. Somit beeinflussen diese den Knochenumbau im Sinne eines Knochenaufbaus (Bosshardt 2008).

1.8.2. Schmelzmatrixproteine - klinische Anwendung

SMP werden in der Regel im Rahmen chirurgischer Verfahren, wie dem Open Flap Debridement, oder über einen koronalen Verschiebelappen für die Behandlung von Rezessionsdefekten angewandt (Sculean et al. 2007). Ebenso ist bei ausgedehnten Defekten die Anwendung in Verbindung mit Knochenersatzmaterialien möglich; die Kombination kann auf Langzeit zum Zahnerhalt beitragen (Bröseler et al. 2017).

Je nach Morphologie ist zwischen supraalveolären und infraalveolären (auch supra- oder infraossären) Defekten zu unterscheiden. Die supraalveolären Defekte zeichnen sich durch einen koronal oder okklusal von der alveolären Knochengrenze befindlichen Taschengrund und eine horizontale Defektgeometrie aus. Dem gegenüber hält sich der Grund infraalveolärer Defekte apikal der Knochengrenze auf. Diese Knochentaschen zeigen eine asymmetrische, vertikale Geometrie, die ein- bis dreiwandig erscheinen kann. Zu den infraalveolären Defekten gehören auch die Furkationsdefekte, welche sich durch einen Knochenabbau zwischen den Wurzeln eines Zahnes darstellen (Ellegaard 1974, Goldman und Cohen 1958, Graziani et al. 2018, Papapanou und Tonetti 2000, Pepelassi et al. 2000). Zähne, welche infraalveoläre Defekte aufweisen, zeigen eine erhöhte Progredienz der Erkrankung und gehen eher verloren (Papapanou und Tonetti 2000). Aufgrund mangelnder zellulärer Ressourcen für eine adäquate Wundheilung sind Therapieerfolge nach der Anwendung von SMP eher bei vertikalen und tiefen als bei horizontalen und flachen Defekten zu erwarten (Graziani et al. 2018, Yilmaz et al. 2003), wobei sich der zusätzliche Einsatz von SMP positiv auf die chirurgische Therapie supraalveolärer Taschen auswirken kann (Jentsch und Purschwitz 2008).

Beispielhaft kann die Behandlung infraalveolärer Defekte wie folgt ablaufen: nach lokaler Anästhesie und intrakrevikulären Inzisionen werden Mukoperiostlappen gebildet und gegebenenfalls durch vertikale Inzisionen entlastet, um das Operationsgebiet besser zugänglich zu machen. Nach Entfernung von Granulationsgewebe und Scaling der Wurzeloberfläche erfolgt die zweiminütige Konditionierung der Wurzeloberfläche mit 24 % Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Gel, um die Schmierschicht zu entfernen, beispielsweise über das Produkt PrefGel® (Institut Straumann, Basel, Schweiz) (Fidyawati et al. 2017, Sculean et al. 2006). Nach

Spülung kann das schmelzmatrixproteinhaltige Produkt mittels vorgefertigter Spritzen appliziert und die Wunde mit Nähten verschlossen werden (Döri et al. 2013). Prinzipiell gilt die Anwendung, von der chirurgischen Behandlung abgesehen, als einfach (Foitzik et al. 2005).

2. Aufgabenstellung

Diese Studie hatte sich zum Ziel gesetzt, klinische und biochemische Ergebnisse nach adjunktiver Anwendung von Schmelzmatrixproteinen durch das Produkt Emdogain® (Institut Straumann AG, Basel, Schweiz) bei der Behandlung residualer parodontaler Taschen zu untersuchen. Es sollte hierbei gezeigt werden, ob nach 6 und 12 Monaten durch die adjunktive Anwendung von Schmelzmatrixproteinen während eines zweiten Scaling und Root Planings der residualen Taschen positive Effekte auf die klinischen Variablen PD, AL und BOP sowie auf die biochemischen Variablen IL-1- β , MMP-8, IL-10 und TGF- β im Vergleich zu einem zweiten Scaling und Root Planing ohne Einsatz von adjunktiven Hilfsmitteln erzielbar sind.

3. Material und Methoden

Das Forschungsvorhaben wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig mit dem Votum AZ; 049-15-09032015 unter Berücksichtigung der Grundsätze der Deklaration von Helsinki mit ihrer Novellierung von Fortaleza, 2013 genehmigt.

Die Prüfung auf Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte nach 6 – 12 Wochen bei der Reevaluation des ersten SRP. Bezüglich des Einverständnisses der volljährigen und mündigen Probanden wurde nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Aufklärung jeweils eine Einwilligungserklärung unterzeichnet.

Spezifische Einschlusskriterien waren Zähne, die bei Vorliegen einer chronischen oder aggressiven Parodontitis (Armitage 1999) nach bereits durchgeführten SRP Resttaschen mit einer Mindestdiefe von 5 mm aufwiesen, die positiv auf Bluten auf Sondieren reagierten und supra- oder infraaveoläre Taschen zeigten.

Spezifische Ausschlusskriterien waren Resttaschen, deren Tiefe 8 mm überschritt, Taschen mit Furkationsbeteiligung, Zahnbeweglichkeiten > Grad 1, Paro-Endo-Läsionen, ungenügende Mundhygiene sowie inadäquate Restaurationen oder Malokklusion. Patienten, die von nekrotisierenden oder ulzerierenden Parodontitiden betroffen waren, durften nicht an der Studie teilnehmen.

Anamnestisch waren systemische Erkrankungen und Medikationen, welche die Immunantwort beeinflussen, auszuschließen. Dies schloss maligne Erkrankungen der Mundhöhle sowie Zustände bei oder nach Radio- und/oder Chemotherapie oder hoch dosierte Hormontherapien ein. Bei Vorliegen systemischer Erkrankungen, wie Diabetes mellitus, mussten diese medikamentös eingestellt worden sein. Weiterhin waren die Einnahme von Antibiotika bis zu drei Monate vor Studienbeginn, Zigarettenkonsum von über 10 Zigaretten pro Tag, sowie Alkohol- und/oder Drogenmissbrauch Ausschlusskriterien. Auch Stillende und Schwangere, sowie Patienten, welche an Infektionskrankheiten litten, durften nicht an der Studie teilnehmen.

3.1 Erhobene Variablen

Die Untersuchung der Patienten, die Erhebung ihrer Daten, die Messung der klinischen und biochemischen Variablen sowie deren Dokumentation und die Durchführung der Behandlungen erfolgte durch Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Jentsch in der Zahnarztpraxis von Herrn Dr. med. dent. T. Schütz in Borna.

Nach Überprüfung der Patienten auf Ein- und Ausschlusskriterien wurden zur Basisuntersuchung die individuellen Patienteninformationen inklusive Alter, Geschlecht, Erkrankungen, Medikationen und Rauchverhalten erhoben.

Nach Dokumentation wurde die Mundhygiene der Patienten kontrolliert. Hierbei sollte die Plaquepunktzahl der gesamten Mundhöhle bzw. Full Mouth Plaque Score (FMPS) unter 20 % liegen. FMPS entspricht dem prozentualen Anteil plaque-betroffener Stellen der gesamten Dentition. Um diese sichtbar zu machen, wurde ein Plaquerelevator, Mira-2-Tone® (Hager & Werken GmbH & Co. KG, Duisburg, Deutschland), genutzt. Die Summe der dargestellten plaque-positiven Stellen wurde erhoben, diese durch die Summe aller Stellen dividiert und mit 100 multipliziert.

Mittels 6-Punkt-Messungen wurden PD und AL in Millimetern sowie BOP dichotom als positiver oder negativer Wert jeweils an der mesiobukkalen, bukkalen und distobukkalen sowie mesiooralen, oralen und distooralen Stelle der Test- und Kontrollzähne erfasst. An diesen Stellen durften keine Beläge vorhanden sein, was einer lokalen Plaquepunktzahl bzw. Local Plaque Score (Local PS) von 0 % entsprach.

PD definiert sich als Distanz zwischen Gingivarand und Sulkus- bzw. Taschenboden (Armitage 1995). Zur Messung diente das Parodontometer PCP-UNC 15 (Hu-Friedy Manufacturing Co., Chicago, Illinois, USA). Die Sondierungskraft betrug ca. 0,20 – 0,25 N (Shayeb et al. 2014).

Zur Darstellung von AL wurde der Abstand der Schmelz-Zement-Grenze zum Taschenboden gemessen. Bei nicht eindeutig zu erkennender Schmelz-Zement-Grenze waren Restaurationsränder als Bezugspunkt zu wählen (Armitage 1995).

Bluten auf Sondieren (BOP) wurde als dichotome Variable über einen positiven oder negativen Wert erfasst, indem die marginale Gingiva am Tascheneingang auf Blutungen in den 30 Sekunden nach Messung von PD und AL überprüft wurde (van der Weijden et al. 1994).

Die mit SMP zu behandelnden Zähne der Testgruppe und die Zähne der Kontrollgruppe auf der kontralateralen Seite wurden vermerkt; ebenso die Stellen, die für die Auswertung genutzt werden sollten. Weiter folgten die Klassifikation der Parodontitide und die Diskriminierung zwischen infra- und supraalveolären Knochendefekten. Schienungen von Zähnen, Zahnbeweglichkeiten wurden eruiert und vermerkt. Beweglichkeiten, die über Grad 1 hinausgingen sowie Furkationsbefälle, wurden ausgeschlossen.

Mittels Periopaper®-Papierstreifen (Oraflow Inc., Smithtown, New York, USA) wurde die Sulkusflüssigkeit entnommen. Im Sinne der superfiziellen intracreviculären Vorgehensweise wurden die Papierstreifen in den oberen Bereich der Tasche eingebracht und dort 30 Sekunden belassen, sodass durch Kapillarkräfte die gingivale Sulkusflüssigkeit (GCF) in den Streifen gelangen konnte (Griffiths 2003). Die Proben wurden jeweils in ein protease-freies Eppendorf-Mikroreaktionsgefäß (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) gegeben und bis zur Übergabe an die Universität Bern bei - 80°C zwischengelagert. Die Übergabe erfolgte innerhalb eines Monats an das Labor für Orale Mikrobiologie der Klinik für Parodontologie der Zahnmedizinischen Kliniken der Universität Bern.

Das selektive SRP wurde in Lokalanästhesie mittels Ultracain® D-S forte durchgeführt (Sanofi-Aventis GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) – Wirkstoff Articainhydrochlorid/Epinephrinhydrochlorid. Die mechanische Bearbeitung erfolgte mittels Hand- und Ultraschallinstrumenten (Hu-Friedy Manufacturing Co., Chicago, Illinois, USA). Eine Weichgewebeskürettage wurde vermieden, lediglich hyperplastische Gingiva und Granulationsgewebe wurden einmalig entfernt.

Die Wurzeloberflächen der zu behandelnden Zähne der Testgruppe wurden zunächst mit 24 % EDTA-Gel (PrefGel®, Institut Straumann AG, Basel, Schweiz) behandelt. Nach 2-minütiger Applikation wurde die Tasche gründlich mit steriler physiologischer

Kochsalzlösung gespült. Vor Applikation der SMP wurde sichergestellt, dass Blutungen gestillt und die Wurzeloberflächen frei von Blutresten und Debris waren. Nützlich waren hierbei Vliesspitzen („Sugi® Eyespear“, Kettenbach GmbH & Co. KG, Eschenburg, Deutschland). Die Applikation der SMP erfolgte mittels stumpfer Kanülen. Die genutzte Menge an SMP wurde zusammen mit der Gesamtbehandlungsdauer, inklusive Sondierungen, SRP und SMP-Applikation, vermerkt. Auf der kontralateralen Seite bzw. in der Kontrollgruppe wurde keine zusätzliche Behandlung vorgenommen.

Nach Eingriff wurden die Patienten zur Nachsorge instruiert. Für 2 Wochen war auf die patientenseitige mechanische Mundhygiene der betroffenen Gebiete zu verzichten. Stattdessen sollte die antiseptische Mundspüllösung Chlorhexamed® FORTE 0,2% (GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co. KG, München, Deutschland) verwendet werden. In diesen zwei Wochen fand außerdem eine professionelle Reinigung der Zähne einmal pro Woche in der Zahnarztpraxis Dr. med. dent. T. Schütz statt. Nach 2 Wochen durfte ein vorsichtiges Putzen der Zähne wieder aufgenommen werden.

Nach 6 und 12 Monaten wurde die Reevaluierung in der Test- und Kontrollgruppe vorgenommen, dabei die Mundhygiene der Patienten wieder über FMPS und Local PS kontrolliert, PD, AL und BOP erhoben sowie erneut Sulkusflüssigkeitsproben entnommen.

3.2. biochemische Auswertung

Die Sulkusflüssigkeitsproben wurden auf IL-1- β , MMP-8, IL-10 und TGF- β untersucht im Labor für Orale Mikrobiologie der Zahnmedizinischen Kliniken der Klinik für Parodontologie der Zahnmedizinischen Kliniken der Universität Bern bei Frau Prof. Dr. med. dent. S. Eick.

Die Analyse der Sulkusflüssigkeiten wurde antikörperbasiert durch ELISA realisiert. Es kamen „Duo Sets“ des Herstellers R&D (R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, Großbritannien) zur Anwendung.

Zuerst erfolgte die Vorbereitung der Platte, welche die Proben aufnehmen sollte:

„Capture“-Antikörper sollen durch Antigen-Antikörper-Reaktion einen molekularen Nachweis ermöglichen. Diese Fangantikörper wurden auf Arbeitskonzentration in phosphatgepufferter Salzlösung verdünnt. Die Vertiefungen („Wells“) einer Mikrotiterplatte wurde jeweils mit der Lösung beschickt und verschlossen über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Inkubation erfolgte eine Entnahme der Lösungen und mehrfache pufferbasierte Waschung der Wells. Überbleibende Flüssigkeiten und zuletzt der Waschpuffer wurden entfernt. Eine Blockierung der Platten folgte, indem jedes Well mit Reagenzverdünnungsmittel beschickt und die Platte mindestens eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert wurde. Es erfolgte erneut die Waschung wie beschrieben, sodass die Platte für die Aufnahme der Probe bereit war.

Es folgte das Assay: 100 µL der Proben wurden mit einem Reagenzverdünnungsmittel jeweils in ein Well gegeben, abgedeckt und zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Die beschriebene Waschung wurde daraufhin erneut vorgenommen. 100 µL eines verdünnten Detektionsantikörpers wurden jeweils einem Well hinzugefügt, wieder abgedeckt, zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert und erneut wie beschrieben gewaschen. Den Wells wurde dann 100 µL verdünntes Streptavidin-Protein zugefügt, diese erneut abgedeckt und 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Ab diesem Schritt war es nun wichtig, dass die Platte keinem direkten Licht ausgesetzt war. Es folgte eine erneute Waschung, wonach 100 µL Substratlösung in die Wells gegeben und nach 20 minütiger Inkubation 50 µL Stopplösung hinzugefügt wurde. Die optische Dichte jedes Wells wurde dann sofort mit Mikrotiterplatten-Lesegeräten ermittelt.

Die Nachweisgrenzen für IL-1-β, IL-10 und TGF-β lagen bei 1 pg / site, für MMP-8 bei 25 pg / site.

3.3. statistische Auswertung

Die erhobenen Messwerte wurden dem Promovenden übergeben und von diesem im Programm Microsoft® Excel® 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) zusammengestellt und mit Unterstützung von Frau Prof. Dr. med. dent. S. Eick statistisch ausgewertet.

Die statistische Analyse erfolgte über das Programm IBM® SPSS® Statistics V. 25.0 (IBM Corporation, New York, New York, USA). Mittelwert, Median mit Standardabweichung sowie Minimum und Maximum wurden dargestellt. Für die vergleichenden Tests zwischen und innerhalb der Gruppen kam der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test unter Berücksichtigung der negativen und positiven Ränge, mittleren Ränge und Rangsummen sowie der Bindungen zur Verwendung.

Primärer Endpunkt der Studie war die Veränderung von PD nach 12 Monaten. Sekundäre Endpunkte sollten PD nach 6 Monaten, BOP, AL sowie die Spiegel an IL-1- β , MMP-8, IL-10 und TGF- β darstellen.

Das Signifikanzniveau wurde mit $\alpha < 0,05$ festgelegt, Tendenzen für Signifikanzen mit $0,05 \leq \alpha < 0,1$.

Es wurde eine post hoc Poweranalyse durchgeführt, die sich auf den primären Endpunkt, PD nach 12 Monaten, bezog und auf Grundlage der Effektgröße d_z , dem Signifikanzniveau α und der Gesamtfallzahl errechnet wurde. Es kam hierbei das Programm G*Power® V. 3.1.9.4 (Franz Faul, Universität Kiel, Deutschland) zum Einsatz.

4. Ergebnisse

4.1. Demographie und Basisdaten

In der Zeit von Juni 2015 bis Oktober 2017 wurden insgesamt 13 Patienten aus der Zahnarztpraxis Dr. med. dent. T. Schütz, Altenburger Straße 13 in 04552 Borna, für die Untersuchung gewonnen und im Rahmen dieser Studie behandelt. Von diesen waren 5 männlich und 8 weiblich, ihre Altersspanne lag zwischen 46 und 72 Jahren. 3 Patienten gaben an, regelmäßig Tabak zu konsumieren.

Außer einem Patienten, der an aggressiver Parodontitis litt, waren alle Patienten von chronischer Parodontitis betroffen. 7 Patienten wiesen infraalveoläre Defekte auf, 3 supraalveoläre, wiederum 3 sowohl infra- als auch supraalveoläre.

Geschiente Zähne wurden bei zwei Patienten festgestellt, wobei die Schienung der relevanten Test- bzw. Kontrollgruppenzähne durch Kronenblöcke realisiert worden waren, bei einem Patienten durch ein prothetisches Geschiebe. Mobilitäten und Furkationsbefälle relevanter Zähne traten nur in einem Fall mit Lockerungsgrad 1 und Furkationsgrad 2 - auf Distanz zur Untersuchungsstelle - auf.

Durch die SMP-Applikation bedingte unerwünschte Nebenwirkungen blieben aus. Es wurde im Median 0,15 ml an SMP verwendet. Die Dauer der Intervention mit Sondierung, zweitem SRP und Anwendung der SMP lag im Median bei 18 Minuten, mindestens bei 8 Minuten, maximal bei 25 Minuten.

Die Auswertung des FMPS belief sich zur Basisuntersuchung bei allen Patienten auf weniger als 20 %, lokale Plaqueansammlungen waren weder an den Test- noch an den Kontrollzähnen zu eruieren, womit Local PS 0 % betrug.

Zur Basisuntersuchung lag PD in der Testgruppe im Mittel bei 5,85 mm, in der Kontrollgruppe im Mittel bei 5,54 mm.

Zur Basisuntersuchung lag AL in der Testgruppe im Mittel bei 6,23 mm, in der Kontrollgruppe im Mittel bei 5,69 mm.

BOP positive Messstellen fanden sich zur Basisuntersuchung sowohl in der Test-, als auch in der Kontrollgruppe an allen behandelten Zähnen.

Die laborchemischen Variablen konnten in der Test- und Kontrollgruppe zur Basisuntersuchung an einem Patienten nicht ausgewertet werden, da entsprechende Proben nicht untersucht werden konnten.

Zur Basisuntersuchung betrug IL-1- β in der Testgruppe im Median 8,82 pg / site, in der Kontrollgruppe im Median 13,78 pg / site.

Zur Basisuntersuchung betrug MMP-8 in der Testgruppe im Median 4089,93 pg / site, in der Kontrollgruppe im Median 6665,66 pg / site.

Zur Basisuntersuchung konnten IL-10 und TGF- β in der Testgruppe und IL-10 in der Kontrollgruppe bei nur einem Patienten nachgewiesen werden. Hierbei betrug in der Testgruppe IL-10 im Median 3,51 pg / site, in der Kontrollgruppe 0,28 pg / site. TGF- β betrug in der Testgruppe im Median 0,77 pg / site.

In Tabelle 1 sind die demographischen Daten und die zur Basisuntersuchung erhobenen Daten zu entnehmen.

Tabelle 1: Demographie und Basisdaten

		Anzahl	Prozent
Geschlecht	männlich	5	38,5
	weiblich	8	61,5
Rauchen	nein	10	76,9
	ja	3	23,1
Defekttyp	infraalveolär	7	53,8
	supraalveolär	7	23,1
	infra- und supraalveolär	3	23,1
Alter [Jahre]	$\bar{x} \pm s$	57,69 \pm 8,05	
	\bar{x}	56,00	
	min - max	46,00 – 72,00	
Dauer der Intervention [min]	$\bar{x} \pm s$	16,31 \pm 5,63	
	\bar{x}	18,00	
	min - max	8,00 – 25,00	
verwendetes EMD-Volumen [ml]	$\bar{x} \pm s$	0,21 \pm 0,23	
	\bar{x}	0,15	
	min - max	0,10 – 1,00	

FMPS 0 [%]		< 20	
Local PS 0 [%]	$\bar{x} \pm \varsigma$	0,00	
	\tilde{x}	0,00	
	min - max	0,00	
		t	c
PD 0 [mm]	$\bar{x} \pm \varsigma$	5,85 ± 0,80	5,54 ± 0,52
	\tilde{x}	6,00	6,00
	min - max	5,00 – 8,00	5,00 – 6,00
AL 0 [mm]	$\bar{x} \pm \varsigma$	6,23 ± 1,09	5,69 ± 0,48
	\tilde{x}	6,00	6,00
	min - max	5,00 – 8,00	5,00 – 6,00
BOP 0 [±/-]	$\bar{x} \pm \varsigma$	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
	\tilde{x}	1,00	1,00
	Minimum – Maximum	1,00 – 1,00	1,00 – 1,00
IL-1-β 0 [pg/site]	$\bar{x} \pm \varsigma$	12,44 ± 10,78	21,95 ± 25,56
	\tilde{x}	8,82	13,78
	min - max	2,53 – 34,46	0,00 – 93,26
MMP-8 0 [pg/site]	$\bar{x} \pm \varsigma$	4062,47 ± 2962,88	5764,93 ± 4207,11
	\tilde{x}	4089,93	6665,66
	min - max	493,35 – 9413,20	915,05 – 11274,04
IL-10 0 [pg/site]	$\bar{x} \pm \varsigma$	3,51 ± 12,17	0,28 ± 0,98
	\tilde{x}	0,00	0,00
	min - max	0,00 – 42,17	0,00 – 3,41
TGF-β 0 [pg/site]	$\bar{x} \pm \varsigma$	0,76 ± 2,66	0,000 ± 0,000
	\tilde{x}	0,00	0,00
	min - max	0,00 – 9,21	0,00
0: zur Basisuntersuchung t: Testgruppe c: Kontrollgruppe $\bar{x} \pm \varsigma$: Mittelwert ± Standardabweichung \tilde{x} : Median min - max: Minimum bis Maximum			

4.2. Vergleich der klinischen und biochemischen Variablen zu den Untersuchungszeitpunkten

FMPS betrug im Mittel nach 6 Monaten 24,08 %, nach 12 Monaten 29,46 %. Hierbei zeigte ein Patient zur zweiten Reevaluationen einen stark erhöhten FMPS-Wert mit 80 % im Mittel.

Local PS betrug im Mittel nach 6 Monaten 7,70 % und nach 12 Monaten 8,00 %. Lokale Plaqueansammlungen fanden sich zu den Reevaluationen bei einem Patienten, die Mediane des Local PS lagen zu beiden Zeitpunkten bei 0 %.

PD betrug im Mittel in der Testgruppe nach 6 Monaten 4,00 mm, nach 12 Monaten 3,69 mm; in der Kontrollgruppe nach 6 sowie nach 12 Monaten 4,31 mm.

Im absoluten Vergleich der Reduzierungen zwischen den Gruppen waren signifikante Unterschiede bezüglich PD nach 12 Monaten zu verzeichnen ($p = 0,020$).

AL betrug im Mittel in der Testgruppe nach 6 Monaten 4,62 mm und nach 12 Monaten 4,46 mm; in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten 4,62 mm und nach 12 Monaten 4,46 mm.

Im absoluten Vergleich der Reduzierungen zwischen den Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich AL nach 6 und 12 Monaten zu verzeichnen.

BOP positive Messstellen fanden sich nach 6 und 12 Monaten an einem Zahn der Kontrollgruppe. Daneben blieben Provokationsblutungen zu beiden Reevaluationen an allen anderen Messstellen aus.

Im absoluten Vergleich der Reduzierungen zwischen den Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich BOP nach 6 und 12 Monaten zu verzeichnen.

IL-1- β betrug im Median in der Testgruppe nach 6 Monaten 18,39 pg / site und nach 12 Monaten 14,56 pg / site; in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten 5,21 pg / site und nach 12 Monaten 10,73 pg / site.

MMP-8 betrug im Median in der Testgruppe nach 6 Monaten 4858,22 pg / site und nach 12 Monaten 1302,06 pg / site; in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten 1593,11 pg / site und nach 12 Monaten bei 2622,66 pg / site.

IL-10 betrug im Mittel in der Testgruppe nach 6 Monaten 0,13 pg / site.

Weitere Messergebnisse von IL-10 und TGF- β blieben nach 6 und 12 Monaten aus.

Bezüglich der biochemischen Variablen, IL-1- β , MMP-8, IL-10 und TGF- β , konnten im absoluten Vergleich der Gruppen zum selben Zeitpunkt keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

In Tabelle 2 sind die zu den drei Zeitpunkten gemessenen klinischen und biochemischen Variablen und deren Signifikanzen im Rahmen des absoluten Vergleichs zwischen den Gruppen zum selben Zeitpunkt dargestellt. Signifikante Unterschiede wurden fett markiert, Tendenzen für Signifikanzen unterstrichen.

Tabelle 2: klinische und biochemische Variablen und deren statistische Auswertung

			Zeitpunkt		
			0	6	12
FMPS [%]		$\bar{x} \pm \varsigma$	< 20 %	24,08 \pm 6,61	29,46 \pm 17,05
		\bar{x}		22,00	22,00
		min - max		20,00 – 45,00	18,00 – 80,00
Local PS [%]		$\bar{x} \pm \varsigma$	0	7,7 \pm 27,74	8,00 \pm 27,70
		\bar{x}	0	0,00	0,00
		min - max	0	0,00 – 1,00	0,00 – 1,00
PD [mm]	t	$\bar{x} \pm \varsigma$	5,85 \pm 0,80	4,00 \pm 0,91	3,69 \pm 0,86
		\bar{x}	6,00	4,00	4,00
		min - max	5,00 – 8,00	3,00 - 6,00	2,00 - 5,00
	c	$\bar{x} \pm \varsigma$	5,54 \pm 0,52	4,31 \pm 0,75	4,31 \pm 0,63
		\bar{x}	6,00	4,00	4,00
		min - max	5,00 – 6,00	3,00 – 5,00	3,00 – 5,00
	p		0,102	0,206	0,020
AL [mm]	t	$\bar{x} \pm \varsigma$	6,23 \pm 1,09	4,62 \pm 0,87	4,46 \pm 1,13
		\bar{x}	6,00	5,00	5,00
		min - max	5,00 – 8,00	3,00 - 6,00	3,00 – 7,00
	c	$\bar{x} \pm \varsigma$	5,69 \pm 0,48	4,62 \pm 0,96	4,46 \pm 0,88
		\bar{x}	6,00	5,00	4,00
		min - max	5,00 – 6,00	3,00 – 6,00	3,00 – 6,00
	p		0,070	1,000	0,852

			Zeitpunkt		
			0	6	12
BOP [+/-]	t	$\bar{x} \pm \varsigma$	1,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		\bar{x}	1,00	0,00	0,00
		min - max	1,00 – 1,00	0,00	0,00
	c	$\bar{x} \pm \varsigma$	1,00 ± 0,00	0,08 ± 0,28	0,08 ± 0,28
		\bar{x}	1,00	0,00	0,00
		min - max	1,00 – 1,00	0,00 – 1,00	0,00 – 1,00
	p		1,000	0,317	0,317
IL-1 [pg/site]	t	$\bar{x} \pm \varsigma$	12,44 ± 10,78	23,71 ± 22,46	15,03 ± 12,11
		\bar{x}	8,82	18,39	14,56
		min - max	2,53 – 34,46	1,68 – 84,54	1,12 – 35,03
	c	$\bar{x} \pm \varsigma$	21,95 ± 25,56	19,24 ± 30,43	15,44 ± 13,89
		\bar{x}	13,78	5,21	10,73
		min - max	0,00 – 93,26	0,00 – 98,40	1,96 – 40,01
	p		0,158	0,463	0,917
MMP-8 [pg/site]	t	$\bar{x} \pm \varsigma$	4062,47 ± 2962,88	4903,41 ± 4210,68	3593,77 ± 4734,48
		\bar{x}	4089,93	4858,22	1302,06
		min - max	493,35 – 9413,20	129,13 – 14959,42	325,65 – 16378,44
	c	$\bar{x} \pm \varsigma$	5764,93 ± 4207,107	2615,18 ± 2317,27	3382,09 ± 2656,535
		\bar{x}	6665,67	1593,11	2622,66
		min - max	915,05 – 11274,04	192,98 – 6673,74	213,03 – 8862,29
	p		0,209	0,196	0,917
IL-10 [pg/site]	t	$\bar{x} \pm \varsigma$	3,51 ± 12,17	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,48
		\bar{x}	0,00	0,00	0,00
		min - max	0,00 – 42,17	0,00 – 0,00	0,00 – 1,73
	c	$\bar{x} \pm \varsigma$	0,28 ± 0,98	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
		\bar{x}	0,00	0,00	0,00
		min - max	0,00 – 3,41	0,00	0,00
	p		0,655	1,00	0,317

			Zeitpunkt		
			0	6	12
TGF- β [pg/site]	t	$\bar{x} \pm \varsigma$	0,77 \pm 2,66	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
		\tilde{x}	0,00	0,00	0,00
		min - max	0,00 – 9,21	0,00	0,00
	c	$\bar{x} \pm \varsigma$	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
		\tilde{x}	0,00	0,00	0,00
		min - max	0,00	0,00	0,00
	p		0,317	1,000	1,000
<p>0: zur Basisuntersuchung 6: nach 6 Monaten 12: nach 12 Monaten t: Testgruppe c: Kontrollgruppe $\bar{x} \pm \varsigma$: Mittelwert \pm Standardabweichung \tilde{x} : Median min - max: Minimum bis Maximum p: asymptotische Signifikanz</p>					

4.2.1 Poweranalyse

Die Poweranalyse post hoc ergab bezogen auf PD nach 12 Monaten bei der Fallzahl von 13 Patienten pro Gruppe, dem Signifikanzniveau $\alpha < 0,05$ und der Effektgröße d_z von 0,713 eine Power von 63% (G*Power® V. 3.1.9.4, Franz Faul, Universität Kiel, Deutschland).

4.3. Veränderungen der klinischen und biochemischen Variablen - Vergleich und statistische Auswertung

4.3.1. klinische Variablen

Die Veränderungen zu den Reevaluationen sind im Vergleich zur Basisuntersuchung dargestellt.

Die Veränderungen von FMPS konnten im Bezug zur Basisuntersuchung statistisch nicht dargestellt werden, da die Vorkommen im Rahmen der spezifischen Einschlusskriterien für jeden Patienten mit $< 20 \%$ aufgezeichnet wurden. Im Vergleich der Vorkommen zur ersten und zweiten Reevaluation ergab sich eine Verschlechterung Erhöhung von FMPS um 5 %. Die Veränderung war nicht signifikant.

Local PS erhöhte sich nach 6 Monaten um 7,7 %, nach 12 Monaten um 8,0 %. Die Veränderungen waren nicht signifikant.

PD wurde im Mittel in der Testgruppe nach 6 Monaten um 1,85 mm und nach 12 Monaten um 2,15 mm verringert. Die Veränderungen waren jeweils signifikant ($p = 0,002$ bzw. $p = 0,001$).

PD wurde im Mittel in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten um 1,23 mm verringert, nach 12 Monaten ergab sich keine Veränderung. Beide Veränderungen waren jeweils signifikant ($p = 0,004$ bzw. $p = 0,003$).

Im relativen Vergleich zwischen der Test- und Kontrollgruppe waren signifikante Unterschiede von PD zugunsten der Testgruppe während der 12 Monate zu verzeichnen ($p = 0,005$). Eine Tendenz hierfür konnte während der 6 Monate beobachtet werden ($p = 0,057$).

AL wurde im Mittel in der Testgruppe nach 6 Monaten um 1,62 mm und nach 12 Monaten um 1,77 mm reduziert. Beide Veränderungen waren signifikant ($p = 0,003$ bzw. $p = 0,001$).

AL wurde im Mittel in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten um 1,08 mm und nach 12 Monaten um 1,23 mm reduziert. Beide Veränderungen waren signifikant ($p = 0,006$ bzw. $p = 0,004$).

In der Testgruppe konnte BOP nach 6 sowie nach 12 Monaten vollständig reduziert werden (jeweils $p = 0,000$). In der Kontrollgruppe fielen die Reduzierungen bei

Persistieren einer BOP positiven Stelle jeweils nach 6 und 12 Monaten ebenfalls signifikant aus (jeweils $p = 0,001$).

Im relativen Vergleich zwischen der Test- und Kontrollgruppe konnten bezüglich AL und BOP keine signifikanten Ergebnisse eruiert werden.

4.3.2. biochemische Variablen

Die Veränderungen zu den Reevaluationen sind im Vergleich zur Basisuntersuchung dargestellt.

IL-1- β wurde im Mittel in der Testgruppe nach 6 Monaten um 13,11 pg / site und nach 12 Monaten um 3,18 pg / site erhöht (negative Verringerungen). Die Veränderungen nach 6 Monaten waren signifikant ($p = 0,015$).

IL-1- β wurde im Mittel in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten um 1,34 pg / site und nach 12 Monaten um 6,12 pg / site reduziert. Die Veränderungen waren nicht signifikant.

Im relativen Vergleich zwischen der Test- und Kontrollgruppe waren signifikante Unterschiede von IL-1- β zugunsten der Testgruppe während der 12 Monate zu verzeichnen ($p = 0,05$). Eine Tendenz hierfür konnte während 6 Monaten beobachtet werden ($p = 0,019$).

MMP-8 wurde im Median in der Testgruppe nach 6 Monaten um 64,53 pg / site erhöht, nach 12 Monaten im Median um 856,30 pg / site reduziert. Die Veränderungen waren nicht signifikant.

MMP-8 wurde im Mittel in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten um 2969,02 pg / site, nach 12 Monaten um 2258,89 pg / site reduziert. Signifikante Veränderungen lagen nach 6 Monaten vor ($p = 0,034$).

Im relativen Vergleich zwischen der Test- und Kontrollgruppe waren signifikante Unterschiede von MMP-8 zugunsten der Kontrollgruppe während der 6 Monate zu verzeichnen ($p = 0,028$).

IL-10 wurde im Mittel in der Testgruppe nach 6 Monaten um 3,51 pg / site, nach 12 Monaten um 3,37 pg / site reduziert. In der Kontrollgruppe wurde IL-10 im Mittel nach

6 und nach 12 Monaten um 0,28 pg / site reduziert. Die Veränderungen innerhalb der Gruppen sowie der relative Vergleich dieser erbrachte keine Signifikanzen.

TGF- β wurde im Mittel in der Testgruppe nach 6 sowie nach 12 Monaten um 0,77 pg / site verringert. In der Kontrollgruppe ergaben sich keine Veränderungen zu den Reevaluationen. Die Veränderungen innerhalb der Gruppen sowie der relative Vergleich dieser erbrachte keine Signifikanzen.

In Tabelle 3 sind die die Veränderungen der klinischen und biochemischen Variablen bei den Reevaluationen im Vergleich zur Basisuntersuchung, sowie deren Signifikanzen dargestellt; einerseits innerhalb der jeweiligen Gruppe, andererseits zwischen den Gruppen als relativer Vergleich zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Signifikante Unterschiede wurden fett markiert, Tendenzen für Signifikanzen unterstrichen.

Tabelle 3: Vergleich der Veränderungen

FMPS 6 zu 12	$\bar{x} \pm \varsigma$	0,05 ± 0,11		
	\check{x}	0,01		
	min – max	-0,06 - 0,35		
	p	0,168		
Local PS 6 zu 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	7,7 ± 27,74		
	\check{x}	0,00		
	min - max	0,0 – 1,0		
	p	0,317		
Local PS 12 zu 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	8,00 ± 27,70		
	\check{x}	0,00		
	min - max	0,00 – 1,00		
	p	0,317		
				relativer Vergleich
		t	c	p
PD 6 zu 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	1,85 ± 0,99	1,23 ± 1,01	<u>0,057</u>
	\check{x}	2,00	1,00	
	min - max	0,00 – 3,00	0,00 – 3,00	
	p	0,002	0,004	

		t	c	p
PD 12 zu 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	2,15 ± 0,80	1,23 ± 0,73	0,005
	\tilde{x}	2,00	1,00	
	min - max	1,00 – 3,00	0,00 – 2,00	
	p	0,001	0,003	
AL 6 zu 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	1,62 ± 1,04	1,08 ± 1,04	0,154
	\tilde{x}	2,00	1,00	
	min - max	0,00 – 3,00	0,00 – 3,00	
	p	0,003	0,006	
AL 12 zu 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	1,77 ± 0,83	1,23 ± 0,83	0,70
	\tilde{x}	2,00	1,00	
	min - max	1,00 – 3,00	0,00 – 2,00	
	p	0,001	0,004	
BOP 6 zu 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,28	0,317
	\tilde{x}	1,00	1,00	
	min - max	0,00 - 1,00	0,00 - 1,00	
	p	0,000	0,001	
BOP 12 zu 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	1,00 ± 0,00	0,92 ± 0,28	0,317
	\tilde{x}	1,00	1,00	
	min - max	1,00 - 1,00	0,00 - 1,00	
	p	0,000	0,001	
IL-1-β 6 zu IL-1-β 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	-13,11 ± 16,99	1,34 ± 22,25	<u>0,05</u>
	\tilde{x}	-8,16	2,13	
	min - max	-50,08 – 5,52	-58,54 – 34,63	
	p	0,015	0,286	
IL-1-β 12 zu IL-1-β 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	-3,18 ± 11,88	6,12 ± 20,34	0,019
	\tilde{x}	-2,62	-0,57	
	min - max	-26,25 – 18,91	-20,95 – 53,24	
	p	0,534	0,480	
MMP-8 6 zu MMP-8 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	-1238,80 ± 5515,19	2969,02 ± 3947,72	0,028
	\tilde{x}	-64,53	1007,90	
	min - max	-13474,32 - 5929,54	-1496,34 - 10028,81	
	p	0,638	0,034	

		t	c	p
MMP-8 12 zu MMP-8 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	267,52 ± 5514,10	2258,89 ± 4805,82	0,239
	\tilde{x}	856,30	2144,66	
	min - max	-11385,49 - 6868,69	-5602,42 - 9581,36	
	p	0,583	0,117	
IL-10 6 zu IL-10 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	3,51 ± 12,17	0,28 ± 0,98	0,655
	\tilde{x}	0,00	0,00	
	min - max	0,00 – 42,17	0,00 – 3,41	
	p	0,317	0,317	
IL-10 12 zu IL-10 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	3,37 ± 12,23	0,28 ± 0,98	1,000
	\tilde{x}	0,00	0,00	
	min - max	-1,73 – 42,17	0,00 – 3,41	
	p	0,655	0,317	
TGF-β 6 zu TGF-β 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	0,77 ± 2,66	0,00 ± 0,00	0,317
	\tilde{x}	0,00	0,00	
	min - max	0,00 – 9,21	0,00 – 0,00	
	p	0,317	1,000	
TGF-β 12 zu TGF-β 0	$\bar{x} \pm \varsigma$	0,77 ± 2,66	0,00 ± 0,00	0,317
	\tilde{x}	0,00	0,00	
	min - max	0,00 – 9,21	0,00 – 0,00	
	p	0,317	1,000	
0: zur Basisuntersuchung 6: nach 6 Monaten 12: nach 12 Monaten t: Testgruppe c: Kontrollgruppe $\bar{x} \pm \varsigma$: Mittelwert ± Standardabweichung \tilde{x} : Median min - max: Minimum bis Maximum p: asymptotische Signifikanz				

5. Diskussion

5.1. Therapie der Resttaschen: konservierend versus chirurgisch

Im Rahmen dieser prospektiven, nicht-placebo kontrollierten, im randomisierten Split-Mouth-Verfahren durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass ein zweites SRP zur Reduzierung von Taschentiefe, Attachmentlevel und Bluten auf Sondieren erfolgreich angewendet werden kann.

Resttaschen sind therapiebedürftig, da das Risiko weiterer Attachment- und letztlich Zahnverluste mit Anzahl und Tiefe der Resttaschen steigt (Serino et al. 2001). Die Indikation zur Behandlung von Resttaschen ist nicht einheitlich gesetzt. Es sprechen sich Quellen für die Resttaschen-Behandlung ab einer Taschentiefe von 6 mm (Matuliene et al. 2008) oder ab einer Taschentiefe von 5 mm bei Vorliegen einer Provokationsblutung aus (Seinost 2005), andere prinzipiell ab einer Taschentiefe von 5 mm (Graziani et al. 2017) oder ab einer Taschentiefe von 4 mm bei Bluten auf Sondieren (Cappuyns et al. 2012). Gemein ist den in diesem Absatz genannten Untersuchungen, dass vorliegende Resttaschen einen unvollständig therapierten Teil des erkrankten Parodontiums und somit ein Risiko für weitere Attachment- und Zahnverluste darstellen (Graziani et al. 2017).

Neben der Taschentiefe und dem Attachmentlevel gilt das Bluten auf Sondieren als parodontales Entzündungszeichen und weist auf ein erkranktes subgingivales Mikrobiom hin (Abusleme et al. 2013, Greenstein 1984). Blutungspositive Stellen, die bereits Attachmentverluste erlitten haben, gehen wahrscheinlicher in eine manifeste parodontale Erkrankung über oder erfahren eher weitere Attachmentverluste als blutungsfreie Stellen mit erhöhten Sondierungstiefen (Mdala et al. 2014). Blutungsfreiheit ist folglich ein Indikator für die Stabilität des Parodontiums (Lang et al. 1990, Lang und Bartold 2018) und korreliert mit einem niedrigeren Risiko für weitere Attachmentverluste im Sinne einer Stagnation der Erkrankung (Claffey und Egelberg 1995, Joss et al. 1994, Lang und Bartold 2018).

Es existiert eine Vielzahl an Untersuchungen, die ein chirurgisches Vorgehen nach erstem SRP empfehlen und ein nicht-chirurgisches Vorgehen bei der Behandlung von Resttaschen für insuffizient, ineffektiv und limitiert bezüglich der Schließung oder

Reduktion der Taschen und des Gewinns an Attachment erachten (Graziani et al. 2017, Graziani et al. 2018, Jenkins et al. 2000, Serino et al. 2001, Sculean et al. 2003).

Diesen stehen Studien gegenüber, die darauf hingewiesen, dass bei dem Vorliegen von Resttaschen ein konservierendes Vorgehen einem chirurgischen vorgezogen werden kann (Badersten et al. 1981, König et al. 2008, Lindhe et al. 1982, Mendonça et al. 2012, Pihlstrom et al. 1983, Sigusch et al. 2001). Ebenfalls wurde bestätigt, dass nicht das Verfahren der Taschenbehandlung für die Stabilisierung des Parodontiums entscheidend ist; vielmehr sind einerseits die Qualität der Mundhygiene und die Entfernung von subgingivalem Biofilm bedeutend (Lindhe et al. 1984), andererseits die Schwere der parodontalen Erkrankung: das Attachmentlevel moderater Läsionen kann durch konservierende Vorgehen stabil gehalten werden (Graziani et al. 2017, Morrison et al. 1979).

Weiterführend wurde differenziert, dass beim Vorliegen von Taschentiefen größer 6 mm die Reduktion der Taschentiefe um 0,6 mm und der Gewinn an Attachment um 0,2 mm größer sind als bei nicht-chirurgischer Therapie. In 4 - 6 mm tiefen Taschen erzielte ein SRP eine um 0,4 mm niedrigere Reduzierung der Taschentiefen und 0,4 mm mehr Attachment als die chirurgische Therapie, bei einer Taschentiefe von weniger als 4 mm erzielte das SRP 0,5 mm weniger Attachmentverluste. Es wurde geschlussfolgert, dass ein chirurgisches Vorgehen eher für die Therapie tiefer Taschen, ab einer Tiefe von 7 mm, geeignet ist (Heitz-Mayfield et al. 2002).

In einer weiteren Untersuchung wurden Resttaschen sowohl konservierend in einer Test-, als auch chirurgisch in einer Kontrollgruppe behandelt; Reevaluationen erfolgten nach 3 und 6 Monaten, zwischen diesen Zeitpunkten erfolgten das zweite SRP oder eine Lappenoperation. Zur Basisuntersuchung lagen die Taschentiefen im Mittel bei 4,1 mm in der Test- und bei 4,5 mm in der Kontrollgruppe. Taschentiefe und Attachmentlevel erschienen innerhalb beider Gruppen zu allen Zeitpunkten signifikant reduziert. Die Testgruppe schnitt dabei bezüglich des Attachmentgewinns zwischen den Reevaluationen signifikant besser ab als die Kontrollgruppe (0,2 mm nach 3 Monaten und zusätzliche 0,3 mm nach 6 Monaten). Die Kontrollgruppe konnte bezüglich der Reduktion der Taschentiefen signifikant bessere Ergebnisse vorweisen (3,5 mm nach 3 Monaten und 3,1 mm nach 6 Monaten). In beiden Gruppen wurden signifikante Rezessionen beobachtet, die in der Testgruppe mit 0,77 mm weniger ausgeprägt waren als in der Kontrollgruppe mit 1,09 mm.

Es wurde geschlussfolgert, dass ein zweites SRP die Notwendigkeit eines chirurgischen Vorgehens minimieren kann (König et al. 2008).

5.1.1 Klinische Auswirkungen

Die Ergebnisse dieser Untersuchung erscheinen stimmig im Vergleich zu denen der oben genannten Untersuchungen. Dass bei erhöhten Ausgangswerten die Reduzierung der Entzündungsvariablen nach SRP stärker ausfällt, wurde bereits erwähnt (Hung und Douglass 2002). Die Unterschiede zwischen den Gruppen zur Basisuntersuchung waren jedoch weder für die Taschentiefen, noch für die Attachmentlevel oder Sondierungsblutungen signifikant ($p = 0,102$, $p = 0,070$, $p = 1,000$). In der Testgruppe existierten zur Basisuntersuchung mehrere Taschen mit einer Tiefe von 6 mm und mehr, die alle signifikant reduziert werden konnten. Jedoch persistierten in beiden Gruppen residuale Taschen mit einer Tiefe zwischen 4 und 5 mm. Je nach Indikationsstellung könnte die Notwendigkeit eines chirurgischen Verfahrens hierbei also reduziert, teilweise sogar vermieden werden.

5.1.2. molekularbiologische Auswirkungen

Die Therapie der Resttaschen wirkt sich auch auf molekularer Ebene auf Mediatoren der Wundheilung und Entzündungsreaktion aus.

Die Rollen von IL-1- β und MMP-8 als Entzündungsmarker sowie von IL-10 und TGF- β als wundheilungsfördernde Zytokine wurden bereits erläutert. Nach SRP kann es zu einer signifikanten Reduzierung von IL-1 β , MMP-8, IL-10 und TGF- β kommen (Gamonal et al. 2000, Konopka et al. 2012, Vikram et al. 2015).

Innerhalb dieser Untersuchung entsprachen die Spiegel an IL-1- β zur Basisuntersuchung weitestgehend gesunden Verhältnissen in der Test-, wie auch in der Kontrollgruppe. So werden in der Literatur physiologische IL-1- β -Spiegel der Sulkusflüssigkeiten mittelwertig mit bis zu 15,5 pg / site angegeben (Gamonal et al. 2000, Konopka et al. 2012), bei parodontaler Erkrankung können die Mittelwerte der Spiegel bei 25,12 pg / site (Zhu et al. 2015), 59,6 pg / site (Gamonal et al. 2000) oder 72,5 pg / site liegen (Konopka et al. 2012). Somit können die in dieser Untersuchung

zu allen Zeitpunkten in beiden Gruppen gemessenen Mengen an IL-1- β eher gesunden parodontalen Verhältnissen zugeordnet werden. Die dieser Untersuchung vorausgegangene Behandlung ist in dieser Hinsicht also als positiv zu bewerten. Nach einem SRP kann innerhalb eines Zeitraumes von 4 Wochen bis 12 Monaten mit einer kontinuierlichen Verringerung der IL-1- β -Spiegel gerechnet werden (Al-Shammari et al. 2001, Gamonal et al. 2000, Holmlund et al. 2004, Konopka et al. 2012). Die IL-1- β -Spiegel erschienen in der Testgruppe zu der ersten Reevaluation signifikant erhöht ($p = 0,015$). Da die Spiegel daneben im Mittel zu allen anderen Zeitpunkten in beiden Gruppen noch auf physiologischem Niveau vorzufinden waren, könnte die Erhöhung der Werte auf Umbauprozesse der Gewebe zurückgeführt werden ohne die positiven Effekte des ersten oder zweiten SRP zu minimieren (Eren et al. 2016). Weiterhin ließe sich spekulieren, dass sich der Tageszeitpunkt der Probeentnahme auf die IL-1- β -Vorkommen ausgewirkt haben könnte: es wurde bereits bestätigt, dass der Tagesrhythmus die Vorkommen soweit beeinflusst, dass die Einflüsse klinischer Faktoren schlecht nachvollzogen werden können (Bergmann und Deinzer 2008).

Die MMP-8-Vorkommen waren innerhalb der Kontrollgruppe zur ersten Reevaluation relevant verringert ($p = 0,034$). Physiologische MMP-8-Spiegel rangieren laut Literatur mittelwertig zwischen 2,6 ng / site (Konopka et al. 2012), 2,88 ng / site oder 3,73 ng / site (Eren et al. 2016) und 14,1 ng / site (Teles et al. 2010). Im kranken Gewebe können die Spiegel um ein vielfaches erhöht erscheinen mit 18,6 ng / site (Konopka et al. 2012) oder 34,7 ng / site (Teles et al. 2010). In den verschiedenen Untersuchungen konnte in den ersten 2 – 4 Wochen nach SRP oder chirurgischer Parodontaltherapie eine kontinuierliche Reduzierung der MMP-8-Spiegel beobachtet werden (Chen et al. 2000, Okuda et al. 2001), welche nach 3 Monaten ungefähr auf dem Niveau der Basisuntersuchung rangierten (Jentsch et al. 2016, Okuda et al. 2001) und nach 12 Monaten wiederum verringert vorlagen (Jentsch et al. 2016). Diese Entwicklung wurde auf eine Herabregulation der Entzündungsphase mit Beginn der reparativen Wundheilung zurückgeführt (Han et al. 2012).

Solch eine Entwicklung der MMP-8-Spiegel lässt sich in etwa auch in dieser Untersuchung beobachten. Bei relativ breiter Verteilung der Minimal- und Maximalwerte in beiden Gruppen zu allen Zeitpunkten und mit Blick auf die in der Literatur angegebenen Werte lassen sich im Median sowohl in der Test-, als auch in der Kontrollgruppe zur Basisuntersuchung physiologische MMP-8-Vorkommen feststellen. In Analogie zu den IL-1- β -Spiegeln scheint auch bezüglich MMP-8 eine

Verbesserung des parodontalen Krankheitszustandes nach erstem SRP stattgefunden haben. Die folgenden Veränderungen können eventuell auf die erhöhten Gesamtplaquevorkommen zurückgeführt werden (Cosgarea et al. 2019) oder für eine prolongierte Wundheilungsreaktion sprechen (Han et al. 2012). Eine vollständige Reduzierung der MMP-8-Vorkommen sollte nach Parodontaltherapie nicht erwartet werden: der Basalaktivität von MMP-8 wird auch eine protektive Rolle zugesprochen, da stärkere Attachmentverluste in Mäusen resultierten, deren MMP-8-Gene auf Insuffizienz hin manipuliert worden waren (Hernández et al. 2010, Kuula et al. 2009).

Die Vorkommen von IL-10 und TGF- β in der Sulkusflüssigkeit erhöhen sich bei parodontaler Erkrankung (Mize et al. 2015, Passoja et al. 2010). Die überwiegend unter der Nachweisgrenze liegenden Werte von IL-10 und TGF- β könnten somit stimmig erscheinen, da es zu einer signifikanten Verringerung der klinischen Variablen kam und die Spiegel an IL-1- β und MMP-8 weitestgehend physiologischen Vorkommen entsprachen. Dennoch erscheinen die Nachweise von IL-10 und TGF- β fehlend, da auch im gesunden Zustand eine Grundaktivität der Zytokine vorliegt (Gürkan et al. 2006, Toker et al. 2008). Methodisch wäre noch bezüglich der Nachweise der TGF- β -Vorkommen eine nicht vorgenommene Azidierung der Proben zu nennen; hierdurch wäre ein Nachweis inaktiven TGF- β gegebenenfalls möglich gewesen (Areström et al. 2012, Kuru et al. 2004).

5.2. adjunktiver Einsatz von SMP bei Reinstrumentierung residualer Taschen

Das zweite SRP ist also im Rahmen dieser Untersuchung durchaus fähig gewesen, signifikante Verbesserungen der klinischen Situation zu erzeugen. Jedoch bleiben Unterschiede zwischen Test- und Kontrollgruppe zu klären.

5.2.1. klinische Unterschiede

Es konnte beobachtet werden, dass die Verringerung der Taschentiefen, Gewinn an Attachment und Reduzierung der Sondierungsblutungen innerhalb der Testgruppe

stärker ausfielen, als sie es in der Kontrollgruppe taten. Die Taschentiefe gilt hierbei als primäre Variable bei der Evaluation von Resttaschen, deren Reduzierung besitzt eine höhere Bedeutung bei der Therapie dieser als das Attachmentlevel (Matuliene et al. 2008). Es kann somit von bedeutsamen Unterschieden bezüglich der Veränderung der klinischen Variablen ausgegangen werden.

Diese Unterschiede könnten auf die Verwendung der Schmelzmatrixproteine zurückgeführt werden. Histologische Vorteile einer Anwendung dieser wurden bereits eruiert. In einem Tierversuch an Affen konnte histologisch das regenerative Potential von Schmelzmatrixproteinen über die Wiedehrerstellung von azellulärem Zement, Desmodont und alveolärem Knochen nachgewiesen werden (Hammarström 1997, Hammarström et al. 1997). Heijl konnte in einem Versuch am Menschen dieses Potential bestätigen (Heijl 1997).

Diese Untersuchung beschäftigte sich vor allem mit den klinischen Auswirkungen einer adjunktiven Anwendung von Schmelzmatrixproteinen. Da Schmelzmatrixproteine nach Herstellerempfehlung bei parodontal-chirurgischen Verfahren verwendet werden, nimmt die generelle Studienlage über die Vorteile einer Anwendung vor allem Bezug auf die Kombination von Schmelzmatrixproteinen und chirurgischer Parodontaltherapie. Zu diesen Vorteilen gehören eine signifikant ausgeprägtere Reduzierung von Taschentiefen, Gewinn an Attachment (Beresescu et al. 2017) und eine Verbesserung der Wundheilung (Al-Hezaimi et al. 2012). Die Kombination von chirurgischen Verfahren und Anwendung von Schmelzmatrixproteinen kann eine zusätzliche Reduktion der Taschentiefen von 0,9 mm und einen zusätzlichen Attachmentgewinn von 1,1 mm erzielen (Esposito et al. 2009).

Es existieren Studien, in denen Schmelzmatrixproteine adjunktiv verwendet wurden. So wurde beschrieben, dass bei einem adjunktiven Einsatz von Schmelzmatrixproteinen nach SRP die Wundheilung im Rahmen einer Verringerung gingivaler Entzündung, Vorkommen von Sondierungsblutungen und posotperativer Beschwerden verbessert werden konnte. Signifikante Ergebnisse bezüglich der Reduktion von Taschentiefen blieben in dieser Untersuchung aus (Wennström und Lindhe 2002).

Eine andere Studie verglich den adjunktiven Gebrauch von Schmelzmatrixproteinen bei SRP mit oder ohne Einsatz von Antibiotika. Signifikante Unterschiede bezüglich des Einsatzes von Schmelzmatrixproteinen ohne zusätzliche antibiotische Therapie

konnten nicht beobachtet werden. Es wurde geschlussfolgert, dass das pathologische mikrobielle Milieu maximal reduziert werden müsste, um parodontale Regeneration zu erzielen (Mombelli et al. 2005). Hierbei sei jedoch zu betonen, dass eine Anwendung von Antibiotika nur nach strenger Indikation, bspw. bei schwerer chronischer Parodontitis bis zum 55. Lebensjahr oder bei aggressiver Parodontitis, erfolgen sollte (Güntsch et al. 2008, Pretzl et al. 2018). Auch wenn durch den adjunktiven Einsatz von Antibiotika eine Reduzierung der Keimlast und ein verstärkter Attachmentgewinn resultieren können (Ardila et al. 2015, Dakic et al. 2016, Haffajee et al. 2003), ist dieser Einsatz aufgrund möglicher Nebenwirkungen und Resistenzentwicklungen kritisch zu sehen (Oberoi et al. 2015, Ventola 2015). Man geht bereits so weit, den menschlichen Organismus erst in Kombination mit seinen bakteriellen Besiedlern als vollständiges Individuum auf zellulärer, chemischer und genetischer Ebene zu betrachten (Singh et al. 2013). Optionale Therapieansätze, die den Menschen als Holobionten mit seinem Hologenom berücksichtigen, sich aber im Behandlungsalltag noch etablieren müssen, wären der Einsatz von Probiotika (Ikram et al. 2019, Invernici 2018, Staab et al. 2009) oder Peptiden (Maekawa et al. 2016, Zhang et al. 2016, Tamura et al. 2019).

Weiterhin wurde der Gebrauch von Schmelzmatrixproteinen adjunktiv bei SRP und bei einer minimal-invasiven Operationstechnik im Rahmen einer Resttaschenbehandlung bei tiefen vertikalen Defekten untersucht. Die Reevaluation nach 24 Monaten konnte zeigen, dass die klinischen Veränderungen der MIST-Gruppe im Mittel minimal stärker ausgeprägt waren (Taschentiefenreduktion 3,6 mm vs 3,7 mm und Attachmentgewinne 3,2 mm vs 3,6 mm). Die Lappenoperation verdoppelte die Behandlungszeit. Es wurde geschlussfolgert, dass der adjunktive Gebrauch von Schmelzmatrixproteinen bei konservierender Resttaschenbehandlung vorteilhaft sein könnte (Aimetti et al. 2017).

In einer anderen Untersuchung wurde wiederum gezeigt, dass der zusätzliche Einsatz von Schmelzmatrixproteinen bei nicht-chirurgischer Parodontistherapie keine signifikanten Vorteile erbringt. Die Anwendung der Schmelzmatrixproteine erfolgte zum initialen SRP, die Reevaluation fand nach 3 Monaten statt, weitere Überprüfungen blieben aus (Gutierrez et al. 2003). Die oben genannte Untersuchung, in der Schmelzmatrixproteine adjunktiv bei SRP und bei einer minimal-invasiven Operationstechnik angewandt wurden, konnte nach 24 Monaten signifikante Ergebnisse hervorbringen. In dieser Untersuchung wurde eine Tendenz zur Signifikanz für die Reduktion der Taschentiefen im Vergleich nach 6 Monaten

verzeichnet, eine tatsächliche Signifikanz erst nach 12 Monaten. Dementsprechend könnte man schlussfolgern, dass mit signifikanten Ergebnissen erst nach einer gewissen Wartezeit gerechnet werden kann. Dies steht in Einklang mit Ergebnissen, dass eine vollständige Ausheilung des Faserapparates erst nach Wochen bis Monaten vollständig vollzogen erscheint (Clark 1996).

In einer weiteren Studie wurde die Therapie des SRP mit und ohne adjunktiven Gebrauch von Schmelzmatrixproteinen verglichen. Es wurde geschlussfolgert, dass eine zusätzliche Anwendung von Schmelzmatrixproteinen die Wundheilung verbesserte und Taschen ab einer Sondierungstiefe von 6 mm sowie Attachmentverluste signifikant reduzieren konnte (Graziani et al. 2019).

5.2.2 molekularbiologische Unterschiede

Weiter wirken Schmelzmatrixproteine auf molekularer Ebene.

Schmelzmatrixproteinen verringern die Ausbildung von IL-1- β im Sinne einer Herabregulierung (Weinreb und Nemcovsky 2015). Der antiinflammatorische Effekt auf IL-1- β ist in einem inflammatorischem Milieu nach 6 Tagen besonders erhöht (Nokhbehsaim et al. 2012). Es konnte gezeigt werden, dass Schmelzmatrixproteine die Aktivität von Phagozyten verstärken, wodurch die Phasen der Wundheilung schneller vollzogen werden (Khedmat et al. 2010).

Bezüglich IL-1- β zeigte sich im relativen Vergleich der Veränderungen zwischen den Gruppen eine Tendenz zur Signifikanz bei der ersten Reevaluation und signifikante Unterschiede bei der zweiten (nach 6 Monaten $p = 0,05$, nach 12 Monaten $p = 0,019$). Die IL-1- β -Spiegel stellten sich innerhalb der Testgruppe zu den Reevaluationen erhöht, in der Kontrollgruppe reduziert dar. Die Spiegel können absolut gesehen, wie bereits erwähnt, als nahezu physiologisch angesehen werden. So kann von einer möglichen Entzündungsförderung durch Schmelzmatrixproteine abgesehen werden, da die Freisetzung von IL-1- β durch diese nachweislich nicht gefördert wird (Khedmat et al. 2010). Im Rahmen Anwendung der Schmelzmatrixproteine könnte bezüglich IL-1- β auch von einer Prolongation ausgegangen werden: es konnte bestätigt werden, dass durch den Einsatz von Schmelzmatrixproteinen der Prozess des

Osteoblastenwachstums verlängert wird (Jiang et al. 2001) und dass diese wiederum in der Lage sind, IL-1- β zu produzieren (Corrado et al. 2017).

Schmelzmatrixproteine wirken ebenfalls reduzierend auf die Vorkommen von MMP-8 über eine Herabregulation derer Ausbildung (Karima und Van Dyke 2012). In einem in vitro Versuch wurde jedoch auch beobachtet, dass diese keinen Effekt auf MMP-8 haben können (Goda et al. 2008).

Im relativen Vergleich der Veränderungen der MMP-8-Vorkommen zwischen den Gruppen war zur ersten Reevaluation eine Signifikanz zu beschreiben ($p = 0,028$). Hierbei zeigte sich innerhalb der Testgruppe einer Erhöhung der Vorkommen, innerhalb der Kontrollgruppe eine Verringerung. Dies spricht zunächst für einen Erfolg des zweiten SRP. Eine Prolongation der Wundheilungsreaktion, anhand schwankender MMP-8-Vorkommen hergeleitet, wurde bereits diskutiert (Han et al. 2012). Diese Prolongation könnte sich auch auf die Vorkommen in der Testgruppe durch die Anwendung der Schmelzmatrixproteine ausgewirkt haben. Dieser Zusammenhang wurde auch bezüglich MMP-8 nach Schmelzmatrixprotein-Anwendung festgestellt: waren erhöhte Spiegel an MMP-8 nach operativen Eingriffen in Verbindung mit Schmelzmatrixproteinen vorhanden, pegelten sich diese nach 3 Monaten wieder auf das Niveau der Basisuntersuchung ein (Okuda et al. 2001). Vorstellbar wäre auch eine vermehrte Synthetisierung von MMP-8 durch Odontoblasten im Rahmen der Umstrukturierung des alveolären Knochens (Bord et al 1996, Palosaari et al. 2000), wobei das Wachstum der Odontoblasten wiederum durch Schmelzmatrixproteine gefördert wird (Jiang et al. 2001).

Bezüglich der Vorkommen an IL-10 und TGF- β konnten keine nennenswerten signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen werden. In verschiedenen Untersuchungen wurde betont, dass Schmelzmatrixproteine die Freisetzung von IL-10 nicht signifikant beeinflussen zu scheint (Myhre et al. 2006, Nokhbehsaim et al. 2011). Die autokrine Freisetzung von TGF- β durch Mesenchymzellen wird nachweislich von Amelogeninen gefördert (Lyngstadaas et al. 2009, Suzuki et al. 2005), in einem entzündlichen Milieu jedoch effektiv reduziert (Nokhbehsaim et al. 2011). Da die Nachweise von IL-10 und TGF- β bereits fehlten, ist die Verzeichnung von relevanten Unterschieden zwischen den Gruppen hinfällig.

Zur der Erhebung der Laborvariablen gilt die Probeentnahme mittels intrakrevikulärer Methode nach Griffiths als Mittel der Wahl (Griffiths 2003, Huynh et al. 2015). Durch

die Analyse des GCF können pathologische Vorgänge erörtert werden (Huynh et al. 2015). Im Zusammenhang zur Anwendung von Schmelzmatrixproteinen wurde darauf hingewiesen, dass bei Erkrankung ein infiziertes, proteasenlastiges GCF die positiven Effekte von EMD reduzieren könnte (Laaksonen et al. 2010). Dies ließe sich aber auch anderweitig interpretieren; insofern dass ein vorhergehendes SRP vor Anwendung der Schmelzmatrixproteine nützlich sein könnte. Dies würde die Resttaschenbehandlung in diesem Zusammenhang zu einer geeigneten Therapie für den adjunktiven Einsatz von Schmelzmatrixproteinen machen. Ein SRP als initiale Parodontitistherapie wird nach wie vor empfohlen (Smiley et al. 2015).

Es fehlten zur Basisuntersuchung bei einem Patienten Proben der Sulkusflüssigkeit, wobei die fehlenden Proben die Ergebnisse nicht zwingend signifikante beeinflusst haben müssen. Weiterhin lagen die Messergebnisse an IL-10 und TGF- β größtenteils unterhalb der Nachweisgrenze. Die Gründe für die ausbleibenden Nachweise von IL-10 und TGF- β wurden bereits diskutiert. Zusätzliche Untersuchungen molekularer Vorgänge der Wundheilung mit Fokus auf Entzündungsvariablen wie Interleukinen und Matrixmetalloproteinasen wären eventuell sinnvoll, da diese in der Bewertung einer erfolgreichen Therapie nützlich sein können (Kuru et al. 2004).

5.3. Mögliche Limitationen der Studie und kritische Gedanken

Diese Studie wurde im Split-Mouth-Design durchgeführt: an einem Patienten wurden oral zwei örtlich voneinander getrennte Therapieformen durchgeführt (Antczak-Bouckoms et al. 1990). Diese Methodik kann effektiv, aber auch fehleranfällig sein: vor allem der „carry-across effect“ wird hierbei gefürchtet, bei dem die Behandlung eines Areales an einem nicht-behandelten Wirkungen zeigt, wodurch Ergebnisse verfälscht werden können (Lesaffre et al. 2009). Es wurde betont, dass es günstiger ist, asymmetrisch verteilte Variablen im Whole-Mouth Design zu untersuchen (Hujoel und Loesche 1990). Es wäre also denkbar, dass die Testgruppe die Variablen der Kontrollgruppe positiv und umgekehrt beeinflusst haben könnte, da die Anwendung der Schmelzmatrixproteine barrierefrei erfolgte. Wiederum ist zu betonen, dass das subgingivale Mikrobiom stellenspezifisch vorzufinden ist und primär durch lokale Entzündungsgeschehen beeinflusst wird (Lu et al. 2019, Shi et al. 2018). Weiterhin kann sich das Split-Mouth-Design positiv auf die Teststärke einer Studie auswirken,

da der Einfluss interindividueller Unterschiede wie Alter, Mundhygiene oder genetische Prädispositionen minimiert wird (Lu et al. 2019).

Schlechte Mundhygiene und Ansammlungen von Biofilmen wurden bereits als Hauptrisikofaktor für die Entstehung von Parodontitis genannt (Lertpimonchai et al. 2017). Erhöhte Ansammlungen an Plaque sind mit erhöhten Vorkommen an Zytokinen und Proteasen vergesellschaftet (Murakami et al. 2018, Ramseier et al. 2009). Die Mundhygiene ist also eng mit den Spiegeln an biochemischen Variablen verknüpft (Cosgarea et al. 2019). Die wundheilungsfördernde Effekte durch Schmelzmatrixproteine sind in einem entzündlichen Milieu herabgesetzt (Nokhbehsaim et al. 2011). Somit steht auch bei einem adjunktiven Gebrauch von Schmelzmatrixproteinen die patientenseitige Mundhygiene im Vordergrund. Prinzipiell schienen die Patienten zur Basisuntersuchung fähig, dieser nachzukommen und wurden in den ersten 2 Wochen nach Eingriff professionell betreut. Es ist leicht anzunehmen, dass die Gesamtplaquevorkommen zu den Reevaluationen schlechter als zur Basisuntersuchung erschienen, da die Gründlichkeit der Mundhygiene nachgelassen hat. Wiederum waren die Veränderungen der Mundhygiene zwischen den Reevaluationen nicht signifikant ($p = 0,168$). Weiterhin ist die Plaquebildungsrate interindividuell unterschiedlich: diese wurde bereits als erblich bedingt bezeichnet (Aleksejuniene et al. 2006). Weiterhin können parodontaler Entzündungsgrad und Plaquebildung korrelieren (Rowshani et al. 2004). Bereits 1963 wurde spekuliert, dass bei tieferen Taschen eine vermehrte Ausscheidung von Sulkusflüssigkeit erfolgt, womit mehr Substrate für Bakterien zur Verfügung stehen und letztlich Plaque schneller entstehen kann (Mann 1963). Hiermit erscheint eine engmaschige professionelle Nachsorge mit individueller Mundhygieneinstruktion und professioneller Entfernung von Plaque im Sinne einer unterstützenden Parodontitistherapie sinnvoll (Tonetti et al. 2015).

Bezüglich der Wundheilung nach wiederholtem SRP existieren Studien, die ein 3-monatiges Intervall für eine subgingivale Instrumentierung kritisch sehen. In diesem Zusammenhang werden eine erhöhte Traumatisierung der Gewebe und damit ausbleibende vollständige Regeneration der Gewebe genannt (Badersten et al. 1984, Jenkins et al. 2000). Allerdings erfolgt die subgingivale Rekolonialisierung 2 bis 3 Monate nach SRP (Lu et al. 2019, Stańdo und Lewkowicz 2019). Die Dauer der vollständigen Ausheilung einer parodontalen Wunde nach Parodontaltherapie wird mit 12 Wochen, teilweise mit 8 Wochen angegeben (Emecen-Huja et al. 2013, Polimeni

et al. 2006). Somit scheint der Zeitpunkt der Behandlung im Rahmen dieser Studie vor allem unter dem Gesichtspunkt der signifikanten Reduktion der Taschentiefen, Attachmentlevel und Sondierungsblutungen innerhalb der Gruppen adäquat.

Auch ein erhöhtes Patientenalter kann die Wundheilung beeinträchtigen (Phillips et al. 2003). Dem widerspricht diese Untersuchung, da eine erfolgreiche Reduzierung von Taschentiefen und Attachmentleveln beobachtet werden konnte; hierbei lag das Patientenalter im Mittel bei 57 Jahren. Ebenso existiert eine Untersuchung, in der die Wundheilung nach SRP bei Patienten unterschiedlicher Altersgruppen verglichen wurde (Mittelwerte 34 Jahre versus 58 Jahre). Es wurde geschlussfolgert, dass ein erhöhtes Patientenalter nicht die Verbesserung der Taschentiefen und Attachmentlevel negativ beeinflusst, aber das Risiko für den Verbleib von Resttaschen erhöht (Trombelli et al. 2010). Dies spräche wiederum für ein zweites SRP als Maßnahme bei Resttaschen, da ein erhöhtes Patientenalter in der Regel mit einer erhöhten Multimorbidität und so eher mit einer Multimedikation einhergeht (Vogt-Ferrier 2011). Chirurgische Eingriffe an Patienten, die Gerinnungshemmer einnehmen, sind wegen eines theoretisch nötigen Absetzens der Medikation nur bedingt durchführbar, die Notwendigkeit einer Operation muss dabei streng abgewogen werden (Perry et al. 2007, Wahl et al. 2015). Durch ein konservierendes Vorgehen wäre eine invasive Therapie von Resttaschen unter Vermeidung eines chirurgischen Eingriffes möglich. Die adjunktive Anwendung von Schmelzmatrixproteinen könnte hierbei unterstützend in der Reduzierung von Taschentiefen wirken.

Die Attachmentlevel konnte in beiden Gruppen signifikant reduziert werden, Vergleiche zwischen den Gruppen erbrachten aber keine signifikanten Ergebnisse. Somit zeigt die adjunktive Anwendung von Schmelzmatrixproteinen gegenüber dem alleinigen zweiten SRP diesbezüglich keine Überlegenheit. Die vorliegenden signifikanten Verbesserungen sind innerhalb der Testgruppe jedoch stärker ausgeprägt, was auf das regenerative Potential der Schmelzmatrixproteine zurückzuführen sein könnte. Studien, die den Gebrauch von Schmelzmatrixproteinen im Zusammenhang mit chirurgischen Verfahren untersuchten, konnten im Vergleich zu konservierenden Verfahren eher signifikante Attachmentgewinne zugunsten der operativen Methodik beobachten (Beresescu et al. 2017, Wachtel et al. 2003). Der adjunktive Gebrauch von Schmelzmatrixproteinen erscheint fähig, Attachmentgewinne zu erzielen, jedoch nicht der operativen Technik überlegen zu sein.

Die Reduzierung blutungspositiver Stellen kann in beiden Gruppen als positiv angesehen werden, wodurch es jedoch diesbezüglich zu keinen signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen kam. Persistierende blutungspositive Stellen sollten vom Behandler erfasst werden, sodass betroffene Patienten engmaschig prophylaktisch betreut werden können (Lang und Tonetti 1996). Anamnestisch ist die Einnahme von blutverdünnenden Medikamenten auszuschließen, da hier ein falsch-positives Ergebnis entstehen kann (Royzman et al. 2004, Schrodi et al. 2002). Es sei hierbei zu erwähnen, dass eine Maskierung der Provokationsblutung bei Rauchern zu erwarten sein kann (Ramseier et al. 2015). Somit sollte das Rauchverhalten als Risikofaktor per se gesehen und in einem Risikoprofil entsprechend aufgenommen werden (Lang und Tonetti 2003). Nach Rauch-Entwöhnung ist der Effekt der Maskierung reversibel (Nair et al. 2003). Im Rahmen der Ausschlusskriterien wurde der Zusammenhang des Nikotinkonsums in dieser Studie berücksichtigt. Es existieren Untersuchungen, die ein Fehlen von Sondierungsblutungen nicht als verlässliches Kriterium für die Beurteilung der Gesundheit des Parodontiums ansehen (Rapp et al. 2003). Diesen stehen Studien gegenüber, die betonen, dass die Sondierungsblutung nicht nur bedeutend in der Beurteilung des Gesundheitszustandes des Parodontiums ist, sondern auch eine einfach zu erheben Variable im klinischen Alltag darstellt (Joss et al. 1994, Lang et al. 1991, Lang und Bartold 2018). Ein Patient, der Nicht-Raucher ist, kann hierbei als parodontal stabil angesehen werden, wenn bis zu 20 % aller Messstellen der Mundhöhle eine Provokationsblutung aufweisen, bei Rauchern kann ein Schwellenwert von 23 % gelten (Ramseier et al. 2015).

Weiterhin wird eine Korrelation zwischen der Reduzierung von biochemischen Variablen wie IL-1- β oder MMP-8 und der Verbesserung der klinischen Variablen kritisch gesehen (Konopka et al. 2012). So wurde bereits zu bedenken gegeben, dass IL-1- β als Variable nicht zuverlässig nutzbar ist, um den Erfolg einer parodontalen Behandlung zu bewerten, da signifikante Reduzierungen nur bei Patienten ohne einen bestimmten IL-1- β -Gen-Cluster vorzufinden sind (Al-Shammari et al. 2001, Engebretson et al. 1999). Eine kontinuierliche Reduzierung von IL-1- β oder MMP-8 konnte aber in Untersuchungen nachgewiesen werden (Gamonal et al. 2000, Holmlund et al. 2004, Konopka et al. 2012).

Weiterhin erfolgte die klinische Untersuchung, Therapie und Nachsorge durch einen erfahrenen Behandler. Der Erfahrungsgrad wirkt sich bereits auf die Effektivität der subgingivalen Instrumentierung aus (Brayer et al. 1989). Obwohl die Anwendung von

Schmelzmatrixproteinen prinzipiell als einfach angesehen wird (Foitzik et al. 2005), sind für den eventuell weniger erfahrenen Behandler Schwierigkeiten der Schmelzmatrixprotein-Anwendung, wie das nötige Erreichen von Blutfreiheit, zu beachten. Diese ist wichtig für die Applikation von Schmelzmatrixproteinen, um eine optimale Adhäsion der Proteinmoleküle an die Wurzeloberfläche zu garantieren (Caluseru et al. 2013). Es ist leicht vollstellbar, dass sich die Trockenlegung bei offenen Verfahren unter direkter Sicht leichter gestalten lässt als bei einem SRP wie in dieser Untersuchung.

Die positiven Effekte des SRP werden in der Regel mit einer Kombination von Hand- und Ultraschallinstrumenten erreicht (Jepsen et al. 2011). Das SRP in einer oder mehreren Sitzungen durchzuführen, führt aus Langzeitsicht nicht zu signifikant besseren Ergebnissen (Eberhard et al. 2015, Knöfler et al. 2007). Das Verfahren der Full Mouth Desinfection, bei dem das SRP in einer Sitzung unter massivem, adjunktivem Einsatz von CHX durchgeführt wird, scheint ebenso wenig bessere Ergebnisse zu erzielen (Swierkot et al. 2009). Die hierbei beobachteten positiven Effekte wurden auf das SRP an sich zurückgeführt (Quirynen et al. 2000). Der Gebrauch einer CHX-haltigen Mundspüllösung zur Nachsorge post parodontaltherapeutischem Eingriff gilt jedoch weiterhin als Gold Standard (Kolliyavar et al. 2016). Bezüglich der zusätzlichen Anwendung von Lasern, wie beispielsweise dem Er:YAG Laser, gibt es seitens der Literatur keine eindeutige Empfehlung; es wird jedoch auf ein mögliches positives Potential hingewiesen (Everett et al. 2017).

Es sei außerdem zu erwähnen, dass die gesetzlichen Krankenversicherungen eine Übernahme der Kosten der Schmelzmatrixproteinanwendung in der Regel nicht übernehmen und so wiederum Mehrkosten für den Patienten entstehen. Weiter gedacht kann über die Anwendung ein eventueller Zahnverlust und damit folgende prothetische, ebenfalls kostenintensive Behandlungen (Pretzl et al. 2009) vermieden werden. Weiterhin ist ein chirurgisches Vorgehen mit erhöhten Kosten vergesellschaftet, da mehr Behandlungszeit aufgewendet werden muss (Miremadi et al. 2014), diese Zeit kann bei einem nicht-chirurgischen Vorgehen eingespart werden.

Ebenso sei zu bedenken, dass postoperative Schmerzen nach chirurgischen Eingriffen möglich sind (Fardal et al. 2002), wobei sich deren Auftreten ebenfalls nach dem Spezialisierungs- und Erfahrungsgrad des Behandlers richten können und vom Umfang des Eingriffs abhängen (Mei et al. 2016, Suchetha et al. 2018). Die

Anwendung von Schmelzmatrixproteinen kann postoperative Schmerzen oder Schwellungen nach parodontal-chirurgischem Eingriff verringern (Lee et al. 2019).

Die Power der Studie liegt bei 63%. Das genutzte Programm G*Power stellt dabei ein geeignetes Mittel für die Durchführung einer post hoc Analyse dar (Faul et al. 2007). Für eine Vermeidung falsch negativer Assoziationen wäre eine Power $\geq 80\%$ günstig (Hong und Park 2012).

Der primäre Endpunkt wurde mit der absoluten und relativen Veränderung der Taschentiefen nach 12 Monaten erreicht; ebenso die sekundären Endpunkte der absoluten Veränderung von Taschentiefen, Attachmentleveln und Bluten auf Sondieren nach 6 Monaten.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse dieses Versuches dafür, dass ein zweites SRP zur Behandlung von Resttaschen geeignet ist und eine adjunktive Anwendung von Schmelzmatrixproteinen zur zusätzlichen Reduzierung von Sondierungstiefen Anwendung finden kann.

6. Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med. dent.

Schmelzmatrixproteine bei subgingivaler Instrumentierung residualer Taschen

eingereicht von: Christos Paschalis Charalambos Thomaidis
angefertigt am: Universitätsklinikum Leipzig AöR
Department für Kopf- und Zahmedizin
Universitätszahnmedizin Leipzig
Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Funktionsbereich Parodontologie

betreut von: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. H. Jentsch

November 2019

Ziel dieser Studie war es, die klinischen und biochemischen Ergebnisse einer Behandlung von residualen parodontalen Taschen durch ein zweites Scaling and Root Planing (SRP) bei adjunktivem Einsatz von Schmelzmatrixproteinen (SMP) durch das Produkt Emdogain® (Institut Straumann AG, Basel, Schweiz) mit einem zweiten SRP ohne adjunktive Hilfsmittel zu vergleichen.

Es wurden Patienten behandelt, welche 6 – 12 Wochen vor Durchführung der Untersuchung ein SRP bei Vorliegen einer chronischen oder aggressiven Parodontitis erfahren hatten. Spezifische Einschlusskriterien waren Resttaschen mit einer Taschentiefe (PD) von Mindestens 5 mm, die positiv auf Bluten auf Sondieren (BOP) waren und supra- oder infraalveoläre Defekte aufwiesen.

Wesentliche Ausschlusskriterien waren Resttaschen mit einer PD über 8 mm, Zahnbeweglichkeiten größer Grad 1, nekrotisierende oder ulzerierende

Parodontitiden, Infektionskrankheiten, tumorösen Erkrankungen der Mundhöhle, Zigarettenkonsum von über 10 Zigaretten pro Tag, Schwangerschaft und Stillzeit.

Zur klinischen Untersuchung gehörte zunächst die Kontrolle der Mundhygiene der Patienten über die Plaquepunktzahl der gesamten Mundhöhle (Full Mouth Plaque Score, FMPS), diese musste unter $< 20\%$ liegen. Es folgte die Erhebung der Variablen PD, Attachmentlevel (AL) und BOP mittels 6-Punkt-Messung an den zu behandelnden Zähnen. Lokale Beläge waren auszuschließen, einer lokalen Plaquepunktzahl (Local Plaque Score, Local PS) von 0 % entsprechend. Es wurden im randomisierten Split-Mouth-Verfahren Zähne für die SMP-Anwendung als Testgruppe ausgewählt, Zähne der kontralateralen Seite als Kontrollgruppe. Proben der Sulkusflüssigkeit (GCF) wurden entnommen und auf ihren Gehalt an Interleukin (IL)-1 β , Matrixmetalloproteinase (MMP)-8, IL-10 und Transforming Growth Factor (TGF)- β überprüft.

In Lokalanästhesie erfolgte das zweite SRP mit Ultraschall- und Handinstrumenten. In der Testgruppe kam es nach zur Applikation der SMP durch stumpfe Kanülen in die parodontale Tasche, auf der kontralateralen Seite wurde keine zusätzliche Behandlung durchgeführt. Nach dem Eingriff war für zwei Wochen auf das Zähneputzen der Areale zu verzichten und stattdessen eine antiseptische Mundspüllösung zu nutzen. In dieser Zeit wurde ein Mal pro Woche eine Plaqueentfernung der Zähne durchgeführt.

Es folgten Reevaluationen nach 6 und 12 Monaten mit Überprüfung der Mundhygiene, Erhebung der klinischen Variablen und Entnahme von GCF.

Die biochemische Untersuchung der Proben erfolgte im Labor für Orale Mikrobiologie der Klinik für Parodontologie der Zahnmedizinischen Kliniken der Universität Bern. Die biochemische Analyse erfolgte über Enzyme-linked Immunosorbent Assay.

Die erhobenen Messwerte wurden im Programm Microsoft® Excel® 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) zusammengestellt und statistisch über das Programm IBM® SPSS® Statistics V. 25.0 (IBM Corporation, New York, New York, USA) ausgewertet. Mittelwert, Median mit Standardabweichung sowie Minimum und

Maximum wurden dargestellt. Für die vergleichenden Tests zwischen und innerhalb der Gruppen kam der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test zur Anwendung. Das Signifikanzniveau wurde mit $\alpha < 0,05$ festgelegt, Tendenzen für Signifikanzen mit $0,05 \leq \alpha < 0,1$. Die Poweranalyse erfolgte durch das Programm G*Power® V. 3.1.9.4 (Franz Faul, Universität Kiel, Deutschland).

Insgesamt wurden 13 Patienten behandelt. Die Mundhygiene der Patienten verschlechterte sich im Verlauf der Untersuchung. FMPS lag nach 12 Monaten bei ca. 30 %. Der Local PS betrug nach 12 Monaten ca. 8,0 %. Die Veränderungen waren nicht signifikant.

Es kam in beiden Gruppen zu signifikanten Veränderungen von PD, AL und BOP. In der Testgruppe reduzierte sich PD im Vergleich zur Basisuntersuchung nach 6 und 12 Monaten signifikant ($p = 0,002$ bzw. $p = 0,001$). Ebenso wurde PD in der Kontrollgruppe nach 6 und 12 Monaten signifikant reduziert ($p = 0,004$ bzw. $p = 0,003$). Signifikante Verbesserungen waren auch bezüglich der Veränderung von AL und BOP in der Test- und Kontrollgruppe zu beiden Zeitpunkten zu verzeichnen. Weiterhin kam es zu signifikanten Erhöhungen von IL-1- β in der Testgruppe nach 6 Monaten ($p = 0,015$) und signifikante Reduzierungen von MMP-8 in der Kontrollgruppe nach 6 Monaten ($p = 0,034$). Insgesamt lagen die Vorkommen von IL-1- β und MMP-8 überwiegend auf physiologischem Niveau. Die Werte einiger weniger Proben lagen zum Teil unter der Nachweisgrenze.

Im Vergleich waren signifikante Unterschiede in der Reduktion von PD zugunsten der Testgruppe während 12 Monaten zu verzeichnen ($p = 0,005$), eine Tendenz hierfür konnte während 6 Monaten beobachtet werden ($p = 0,057$). Weiterhin waren im Vergleich Signifikanzen bezüglich der Veränderungen von IL-1- β während 12 Monaten zu verzeichnen ($p = 0,019$) mit einer Tendenz hierfür während 6 Monaten ($p = 0,05$). Der Vergleich erbrachte weiterhin eine Signifikanz für die Veränderung von MMP-8 während 6 Monaten ($p = 0,028$).

Es konnte gezeigt werden, dass ein zweites SRP zur Behandlung von Resttaschen geeignet ist und die adjunktive Anwendung von SMP hierbei einen zusätzlichen, klinischen Vorteil im Rahmen der Taschentiefenreduktion bietet.

7. Literaturverzeichnis

- [1] Abusleme, L., Dupuy, A. K., Dutzan, N., Silva, N., Burleson, J. A., Strausbaugh, L. D., Gamonal, J. and Diaz, P. I. (2013). The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *The ISME journal*, 7, 1016.

- [2] Aimetti, M., Ferrarotti, F., Mariani, G. M. and Romano, F. (2017). A novel flapless approach versus minimally invasive surgery in periodontal regeneration with enamel matrix derivative proteins: a 24-month randomized controlled clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, 21, 327-337.

- [3] Akbari, G., Prabhuji, M., Karthikeyan, B. V., Chorghade, S.G. (2013). MMP-8 analysis in gingival crevicular fluid using ELISA and novel chair-side test. *World Journal of Stomatology*, 2, 24-29.

- [4] Al-Shammari, K. F., Giannobile, W. V., Aldredge, W. A., Iacono, V. J., Eber, R. M., Wang, H. L. and Oringer, R. J. (2001). Effect of non-surgical periodontal therapy on C-telopeptide pyridinoline cross-links (ICTP) and interleukin-1 levels. *Journal of Periodontology*, 72, 1045-1051.

- [5] Albandar, J. M. (2014). Aggressive periodontitis: case definition and diagnostic criteria. *Periodontology 2000*, 65, 13-26.

- [6] Aleksejūniene, J., Scheie, A. and Holst, D. (2006). Inter-individual variation in the plaque formation rate of young individuals. *International Journal of Dental Hygiene*, 4, 35-40.

- [7] Al-Hezaimi, K., Al-Askar, M., Al-Fahad, H., Al-Rasheed, A., Al-Sourani, N., Griffin, T., O'Neill, R. and Javed, F. (2012). Effect of enamel matrix derivative protein on the healing of standardized epithelial wounds: a histomorphometric analysis in vivo. *International Wound Journal*, 9, 436-441.

- [8] Al Shayeb, K. N., Turner, W. and Gillam, D. G. (2014). Accuracy and reproducibility of probe forces during simulated periodontal pocket depth measurements. *The Saudi Dental Journal*, 26, 50–55.
- [9] American Academy of Periodontology (2001). Glossary of periodontal terms.
- [10] American Academy of Periodontology (2005). Position Paper: Periodontal Regeneration. *Journal of Periodontology*, 76, 1601-1622.
- [11] Antczak-Bouckoms, A. A., Tulloch, J. C. and Berkey, C. S. (1990). Split-mouth and cross-over designs in dental research. *Journal of Clinical Periodontology*, 17, 446-453.
- [12] Ardila, C. M., Martelo-Cadavid, J. F., Boderth-Acosta, G., Ariza-Garcés, A. A., Guzmán, I. C. (2015). Adjunctive moxifloxacin in the treatment of generalized aggressive periodontitis patients: clinical and microbiological results of a randomized, triple-blind and placebo-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 42, 160– 168.
- [13] Areström, I., Zuber, B., Bengtsson, T. and Ahlborg, N. (2012). Measurement of human latent transforming growth factor- β 1 using a latency associated protein-reactive ELISA. *Journal of Immunological Methods*, 379, 23-29.
- [14] Armitage, G. C. (1995). Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontology* 2000, 7, 39-53.
- [15] Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology*, 4, 1-6.
- [16] Armitage, G.C. (2004). Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology* 2000, 34, 9-21.
- [17] Armitage, G. C. (2010). Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology* 2000, 53, 70-88.

- [18] Armitage, G. C. and Cullinan, M. P. (2010). Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology* 2000, 53, 12-27.
- [19] Aukhil, I. (2000). Biology of wound healing. *Periodontology* 2000, 22, 44-50.
- [20] Baker, P. J., Rotch, H. A., Trombelli, L. and Wikesjö, U. M. (2000). An in vitro screening model to evaluate root conditioning protocols for periodontal regenerative procedures. *Journal of periodontology*, 71, 1139-1143.
- [21] Badersten, A., Nilvéus, R. and Egelberg, J. (1981). Effect of nonsurgical periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 8, 57-72.
- [22] Beresescu, G. F., Ormenisan, A., Szekely, M., Monea, M. and Monea, A. (2017). Clinical outcomes after regenerative periodontal therapy with emdogain. *Acta Medica Marisiensis*, 63, 136-139.
- [23] Bergmann, A. and Deinzer, R. (2008). Daytime variations of interleukin-1 β in gingival crevicular fluid. *European Journal of Oral Sciences*, 116, 18-22.
- [24] Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *Journal of Periodontal Research*, 28, 500-510.
- [25] Bıyıkoğlu, B., Buduneli, N., Kardeşler, L., Aksu, K., Pitkala, M., & Sorsa, T. (2009). Gingival crevicular fluid MMP-8 and -13 and TIMP-1 levels in patients with rheumatoid arthritis and inflammatory periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 80, 1307-1314.
- [26] Bord, S., Horner, A., Hembry, R. M., Reynolds, J. J. and Compston, J. E. (1996). Production of collagenase by human osteoblasts and osteoclasts in vivo. *Bone*, 19, 35-40.
- [27] Bosshardt, D. D. (2008). Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 87-105.

- [28] Bosshardt, D. D., & Sculean, A. (2009). Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontology 2000*, 51, 208-219.
- [29] Brayer, W. K., Mellonig, J. T., Dunlap, R. M., Marinak, K. W. and Carson, R. E. (1989). Scaling and root planing effectiveness: the effect of root surface access and operator experience. *Journal of Periodontology*, 60, 67-72.
- [30] Brown, L. J. and Löe, H. (1993). Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 2, 57-71.
- [31] Bröseler, F., Tietmann, C., Hinz, A.-K. and Jepsen, S. (2017). Long-term results of periodontal regenerative therapy: a retrospective practice-based cohort study. *Journal of Clinical Periodontology*, 44, 520– 529.
- [32] Buchwald S., Kocher T., Biffar R., Harb A., Holtfreter B. and Meisel P. (2013). Tooth loss and periodontitis by socio-economic status and inflammation in a longitudinal population-based study. *Journal of Clinical Periodontology*, 40, 203– 211.
- [33] Caluseru, O. M., Sculean, A., Zhang, Y. and Miron, R. J. (2013). A review of effective application of an enamel matrix derivative (Emdogain®) for periodontal surgery in the presence of blood. *International Journal of Medical Dentistry*, 3, 171.
- [34] Camelo-Castillo, A. J., Mira, A., Pico, A., Nibali, L., Henderson, B., Donos, N. and Tomás, I. (2015). Subgingival microbiota in health compared to periodontitis and the influence of smoking. *Frontiers in Microbiology*, 6, 119.
- [35] Cappuyns, I., Cionca, N., Wick, P., Giannopoulou, C. and Mombelli, A. (2012). Treatment of residual pockets with photodynamic therapy, diode laser, or deep scaling. A randomized, split-mouth controlled clinical trial. *Lasers in Medical Science*, 27, 979-986.

- [36] Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., Kornman, K. S., Mealey, B. L., Papapanou, P. N., Sanz, M. and Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Periodontology*, 89, 1-8.
- [37] Chapple, I. L. (2009). Potential mechanisms underpinning the nutritional modulation of periodontal inflammation. *The Journal of the American Dental Association*, 140, 178-184.
- [38] Chapple, I. L. C, Van der Weijden, F., Doerfer, C., Herrera, D., Shapira, L., Polak, D., Madianos, P., Louropoulou, A., Machtei, E., Donos, N., Greenwell, H., Van Winkelhoff, A. J., Eren Kuru, B., Arweiler, N., Teughels, W., Aimetti, M., Molina, A., Montero, E. and Graziani F. (2015) Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 42, 71–76.
- [39] Chen, H. Y., Cox, S. W., Eley, B. M., Mäntylä, P., Rönkä, H. and Sorsa, T. (2000). Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 27, 366-369.
- [40] Cheng, R., Liu, W., Zhang, R., Feng, Y., Bhowmick, N. A. and Hu, T. (2017). *Porphyromonas gingivalis*-derived lipopolysaccharide combines hypoxia to induce caspase-1 activation in periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 474.
- [41] Claffey, N. and Egelberg, J. (1995). Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 22, 690-696.
- [42] Claffey, N. and Shanley, D. (1986). Relationship of gingival thickness and bleeding to loss of probing attachment in shallow sites following nonsurgical periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 654-657.

- [43] Clark, R. A. F. (1996). Wound repair: overview and general considerations. In: The molecular and cellular biology of wound repair. 2nd edn, New York: Plenum Press, 3–50.
- [44] Cobb, C. M. (2002). Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 22-32.
- [45] Cobb, C. M. (2008). Microbes, inflammation, scaling and root planing, and the periodontal condition. *American Dental Hygienists' Association*, 82, 4-9.
- [46] Cochran, D., King, G., Schoolfield, J., Velasquez-Plata, D., Mellonig, J. and Jones, A. (2003). The effect of enamel matrix proteins on periodontal regeneration as determined by histological analyses. *Journal of Periodontology*, 74, 1043-1055.
- [47] Corrado, A., Maruotti, N. and Cantatore, F. (2017). Osteoblast role in rheumatic diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1272.
- [48] Cosgarea, R., Tristiu, R., Dumitru, R. B., Arweiler, N. B., Rednic, S., Sirbu, C. I., Lascu, L., Sculean, A. and Eick, S. (2019). Effects of non-surgical periodontal therapy on periodontal laboratory and clinical data as well as on disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical Oral Investigations*, 23, 141-151.
- [49] Costa-Junior, F. R., Alvim-Pereira, C. C., Alvim-Pereira, F., Trevilatto, P. C, de Souza, A. P. and Santos, M. C. (2013). Influence of MMP-8 promoter polymorphism in early osseointegrated implant failure. *Clinical Oral Investigations*, 17, 311–316.
- [50] Cugini, M. A., Haffajee, A. D., Smith, C., Kent, R. L. and Socransky, S. S. (2000). The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *Journal of Clinical Periodontology*, 27, 30-36.

- [51] Cui, L., Sun, Y. P., Li, D. G., Wang, S. H., and Shao, D. (2015). Transforming growth factor- β 1 rs1800469 polymorphism and periodontitis risk: a meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8, 15569.
- [52] Dalla Vecchia, C. F., Susin, C., Rösing, C. K., Oppermann, R. V. and Albandar, J. M. (2005). Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. *Journal of Periodontology*, 76, 1721-1728.
- [53] Dakic, A., Boillot, A., Colliot, C., Carra, M. C., Czernichow, S. and Bouchard, P. (2016). Detection of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* after systemic administration of amoxicillin plus metronidazole as an adjunct to non-surgical periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1277.
- [54] Darveau, R. P. (2010). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 481.
- [55] Deas, D. E., Moritz, A. J., Sagun, R. S., Gruwell, S. F. and Powell, C. A. (2016). Scaling and root planing vs. conservative surgery in the treatment of chronic periodontitis. *Periodontology 2000*, 71, 128-139.
- [56] Demmer, R. T., Desvarieux, M., Holtfreter, B., Jacobs, D. R., Wallaschofski, H., Nauck, M., Völzke, H. and Kocher, T. (2010). Periodontal status and A1C change: longitudinal results from the study of health in Pomerania (SHIP). *Diabetes Care*, 33, 1037-1043.
- [57] Dentino, A., Lee, S., Mailhot, J. and Hefti, A. F. (2013). Principles of periodontology. *Periodontology 2000*, 61, 16-53.
- [58] Dietrich, T., Walter, C., Oluwagbemigun, K., Bergmann, M., Pischon, T., Pischon, N. and Boeing, H. (2015). Smoking, smoking cessation, and risk of tooth loss: the EPIC-Potsdam study. *Journal of Dental Research*, 94, 1369-1375.

- [59] Döri, F., Arweiler, N. B., Szántó, E., Ágics, A., Gera, I. and Sculean, A. (2013). Ten-year results following treatment of intrabony defects with an enamel matrix protein derivative combined with either a natural bone mineral or a β -tricalcium phosphate. *Journal of Periodontology*, 84, 749-757.
- [60] Dubois, C. M., Ruscetti, F. W., Palaszynski, E. W., Falk, L. A., Oppenheim, J. J. and Keller, J. R. (1990). Transforming growth factor beta is a potent inhibitor of interleukin 1 (IL-1) receptor expression: proposed mechanism of inhibition of IL-1 action. *Journal of Experimental Medicine*, 172, 737-744.
- [61] Eberhard, J., Jepsen, S., Jervoe-Storm, P. M., Needleman, I. and Worthington, H. V. (2015). Full-mouth treatment modalities (within 24 hours) for chronic periodontitis in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4.
- [62] Eick, S., Mathey, A., Vollroth, K., Kramesberger, M., Bürgin, W., Sculean, A., Ramseier, C. and Jentsch, H. (2017). Persistence of *Porphyromonas gingivalis* is a negative predictor in patients with moderate to severe periodontitis after nonsurgical periodontal therapy. *Clinical Oral Investigations*, 21, 665-674.
- [63] Ellegaard, B., Kauring, T. and Löe, H. (1974). New periodontal attachment procedure based on retardation of epithelial migration. *Journal of Clinical Periodontology*, 1, 75-88.
- [64] Emecen-Huja, P., Eubank, T. D., Shapiro, V., Yildiz, V., Tatakis, D. N. and Leblebicioglu, B. (2013). Peri-implant versus periodontal wound healing. *Journal of Clinical Periodontology*, 40, 816-824.
- [65] Emingil, G., Han, B., Gürkan, A., Berdeli, A., Tervahartiala, T., Salo, T., Pussinen, P. J., Köse, T., Atila, G. and Sorsa, T. (2014). Matrix metalloproteinase (MMP)-8 and tissue inhibitor of MMP-1 (TIMP-1) gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis: gingival crevicular fluid MMP-8 and TIMP-1 levels and outcome of periodontal therapy. *Journal of Periodontology*, 85, 1070-1080.

- [66] Engebretson, S. P., Lamster, I. B., Herrera-Abreu, M., Celenti, R. S., Timms, J. M., Chaudhary, A. G., di Giovine, F. S. and Kornman, K. S. (1999). The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *Journal of Periodontology*, 70, 567-573.
- [67] Eren, G., Tervahartiala, T., Sorsa, T. and Atilla, G. (2016). Cytokine (interleukin-1 β) and MMP levels in gingival crevicular fluid after use of platelet-rich fibrin or connective tissue graft in the treatment of localized gingival recessions. *Journal of Periodontal Research*, 51, 481-488.
- [68] Esposito, M., Grusovin, M. G., Papanikolaou, N., Coulthard, P. and Worthington, H. V. (2009). Enamel matrix derivative (Emdogain®) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. A Cochrane systematic review. *European Journal of oral Implantology*, 4.
- [69] Everett, J. D., Rossmann, J. A., Kerns, D. G. and Al-Hashimi, I. (2017). Laser assisted non-surgical periodontal therapy: a double blind, randomized clinical trial. *The Open Dentistry Journal*, 11, 79.
- [70] Fardal, Ø., Johannessen, A. C. and Linden, G. J. (2002). Patient perceptions of periodontal therapy completed in a periodontal practice. *Journal of Periodontology*, 73, 1060-1066.
- [71] Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A. G. und Buchner, A. (2007). G* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, 39, 175-191.
- [72] Fidyawati, D., Soeroso, Y. and Masulili, S. L. C. (2017). The effect of root surface conditioning on smear layer removal in periodontal regeneration (a scanning electron microscopic study). In *Journal of Physics: Conference Series*, 884, 012057.

- [73] Fiorini, T., Musskopf, M. L., Oppermann, R. V. and Susin, C. (2014). Is there a positive effect of smoking cessation on periodontal health? A systematic review. *Journal of Periodontology*, 85, 83-91.
- [74] Fincham, A. G., Moradian-Oldak, J., Simmer, J. P., Sarte, P., Lau, E. C., Diekwisch, T. and Slavkin, H. C. (1994). Self-assembly of a recombinant amelogenin protein generates supramolecular structures. *Journal of Structural Biology*, 112, 103-109.
- [75] Foitzik, C., Findeisen, O. and Staus, H. (2005). Bioaktive regenerative Parodontaltherapie. *ZWR - Das Deutsche Zahnärzteblatt*, 114, 280-285.
- [76] Gamonal, J., Acevedo, A., Bascones, A., Jorge, O. and Silva, A. (2000). Levels of interleukin-1 β , -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *Journal of Periodontology*, 71, 1535-1545.
- [77] Genco, R. J. and Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000*, 62, 59-94.
- [78] Genco, R., Ho, A., Grossi, S., Dunford, R. and Tedesco, L. (1999). Relationship of stress, distress, and inadequate coping behaviors to periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 70, 711-723.
- [79] Gestrelus, S., Andersson, C., Johansson, A. C., Persson, E., Brodin, A., Rydhag, L. and Hammarström, L. (1997). Formulation of enamel matrix derivative for surface coating: kinetics and cell colonization. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 678-684.
- [80] Gestrelus, S., Lyngstadaas, S. P. and Hammarström, L. (2000). Emdogain® - periodontal regeneration based on biomimicry. *Clinical Oral Investigations*, 4, 120-125.

- [81] Goda, S., Inoue, H., Kaneshita, Y., Nagano, Y., Ikeo, Y. T., Iida, J. and Domae, N. (2008). Emdogain stimulates matrix degradation by osteoblasts. *Journal of Dental Research*, 87, 782-787.
- [82] Goldman, H. M. and Cohen, D. W. (1958), The infrabony pocket: classification and treatment. *The Journal of Periodontology*, 29, 272-291.
- [83] Gottlow, J., Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T. and Wennström, J. (1986). New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 604-616.
- [84] Graves, D. and Cochran, D. (2003), The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology*, 74, 391-401.
- [85] Graves, D. T., Oates, T. and Garlet, G. P. (2011). Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *Journal of Oral Microbiology*, 3, 5304.
- [86] Graziani, F., Gennai, S., Petrini, M., Bettini, L. and Tonetti, M. (2019). Enamel matrix derivative stabilizes blood clot and improves clinical healing in deep pockets after flapless periodontal therapy: a randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 46, 231– 240.
- [87] Graziani, F., Karapetsa, D., Alonso, B. and Herrera, D. (2017). Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: how many options for one disease? *Periodontology 2000*, 75, 152-188.
- [88] Graziani, F., Karapetsa, D., Mardas, N., Leow, N. and Donos, N. (2018). Surgical treatment of the residual periodontal pocket. *Periodontology 2000*, 76, 150-163.
- [89] Greenstein, G. (1984). The role of bleeding upon probing in the diagnosis of periodontal disease: a literature review. *Journal of Periodontology*, 55, 684-688.

- [90] Greenstein, G. and Hart, T. C. (2002). A critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 73, 231-247.
- [91] Griffiths, G. S. (2003). Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, 31, 32-42.
- [92] Grütz, G. (2005). New insights into the molecular mechanism of interleukin-10-mediated immunosuppression. *Journal of Leukocyte Biology*, 77, 3-15.
- [93] Güntsch, A., Jentsch, H., Pfister, W., Hoffmann, T. and Eick, S. (2008). Moxifloxacin as an adjunctive antibiotic in the treatment of severe chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 79, 1894-1903.
- [94] Gursoy, U. K., Könönen, E., Huuonen, S., Tervahartiala, T., Pussinen, P. J., Suominen, A. L. and Sorsa, T. (2013). Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 40, 18-25.
- [95] Gürkan, A., Emingil, G., Çınarcık, S. and Berdeli, A. (2006). Gingival crevicular fluid transforming growth factor- β 1 in several forms of periodontal disease. *Archives of Oral Biology*, 51, 906-912.
- [96] Gutierrez, M. A., Mellonig, J. T. and Cochran, D. L. (2003). Evaluation of enamel matrix derivative as an adjunct to non-surgical periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 739-745.
- [97] Haffajee, A. D. and Socransky, S. S. (2001). Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, 283-295.
- [98] Haffajee, A. D. and Socransky, S. S. (2009). Relation of body mass index, periodontitis and *Tannerella forsythia*. *Journal of Clinical Periodontology*, 36, 89-99.

- [99] Haffajee, A. D., Socransky, S. S. and Gunsolley, J. C. (2003). Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Annals of Periodontology*, 8, 115-181.
- [100] Hagenaars, S. , Louwerse, P. H., Timmerman, M. F., Van der Velden, U. and Van der Weijden, G. A. (2004). Soft-tissue wound healing following periodontal surgery and Emdogain® application. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 850-856.
- [101] Hajishengallis, G. (2014). The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Molecular Oral Microbiology*, 29, 248-257.
- [102] Hajishengallis, G. and Lamont, R. (2012). Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Molecular Oral Microbiology*, 27, 409-419.
- [103] Hammarström, L. (1997). Enamel matrix, cementum development and regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 658-668.
- [104] Hammarström, L., Heijl, L. and Gestrelus, S. (1997). Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 669-677.
- [105] Han, B., Emingil, G., Özdemir, G., Tervahartiala, T., Vural, C., Atilla, G., Baylas, H. and Sorsa, T. (2012). Azithromycin as an adjunctive treatment of generalized severe chronic periodontitis: clinical, microbiologic, and biochemical parameters. *Journal of periodontology*, 83, 1480-1491.
- [106] Hardy, D. C., Ross, J. H., Schuyler, C. A., Leite, R. S., Slate, E. H. and Huang, Y. (2012), Matrix metalloproteinase-8 expression in periodontal tissues surgically removed from diabetic and non-diabetic patients with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 39, 249-255.

- [107] Heasman, L., Stacey, F., Preshaw, P. M., McCracken, G. I., Hepburn, S. and Heasman, P. A. (2006). The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence. *Journal of Clinical Periodontology*, 33, 241-253.
- [108] Heikkinen, A. M., Raivisto, T., Kettunen, K., Kovanen, L., Haukka, J., Pakbaznejad Esmaeili, E., Elg, J., Gieselmann, D. R., Rathnayake, N., Ruokonen, H. and Tervahartiala, T. (2017). Pilot study on the genetic background of an active matrix metalloproteinase-8 test in finnish adolescents. *Journal of Periodontology*, 88, 464-472.
- [109] Heijl, L. (1997). Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 693-696.
- [110] Heitz-Mayfield, L. J. A., Trombelli, L., Heitz, F., Needleman, I. and Moles, D. (2002). A systematic review of the effect of surgical debridement vs. non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 92-102.
- [111] Hernández, M., Gamonal, J., Tervahartiala, T., Mäntylä, P., Rivera, O., Dezerega, A., Dutzan, N. and Sorsa, T. (2010). Associations between matrix metalloproteinase-8 and-14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study. *Journal of Periodontology*, 81, 1644-1652.
- [112] Hieda, Y., Usui, M., Nakamura, T., Morishita, M., Hanatani, T., Moritani, Y., Y., Koga, Y., Kasai, S., Inoue, M. and Nakashima, K. (2017). Decreased ratios of interleukin-1 β and intercellular adhesion molecule 1 in gingival crevicular fluid after scaling and root planing associated with periodontal pocket healing. *Open Journal of Stomatology*, 7, 361.
- [113] Hoe, E., Nathanielsz, J., Toh, Z. Q., Spry, L., Marimla, R., Balloch, A., Mulholland, K and Licciardi, P. V. (2016). Anti-inflammatory effects of vitamin D on human immune cells in the context of bacterial infection. *Nutrients*, 8, 806.

- [114] Holmlund, A., Hånström, L. and Lerner, U. H. (2004). Bone resorbing activity and cytokine levels in gingival crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 475-482.
- [115] Hönig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedemann, W. and Erard, F. (1989). Increased interleukin-1 beta (IL-1 β) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research*, 24, 362-367.
- [116] Hong, E. P. and Park, J. W. (2012). Sample size and statistical power calculation in genetic association studies. *Genomics & Informatics*, 10, 117.
- [117] Hujoel, P. P. and Loesche, W. J. (1990). Efficiency of split-mouth designs. *Journal of Clinical Periodontology*, 17, 722-728.
- [118] Hung, H. and Douglass, C. W. (2002). Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 975-986.
- [119] Huynh, A. H. S., Veith, P. D., McGregor, N. R., Adams, G. G., Chen, D., Reynolds, E. C., Ngo, L. H. and Darby, I. B. (2015). Gingival crevicular fluid proteomes in health, gingivitis and chronic periodontitis. *Journal of periodontal research*, 50, 637-649.
- [120] IDZ, Institut der Deutschen Zahnärzte (2006). Vierte deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). Deutscher Zahnärzte Verlag.
- [121] Ikram, S., Hassan, N., Baig, S., Borges, K. J. J., Raffat, M. A. and Akram, Z. (2019). Effect of local probiotic (*Lactobacillus reuteri*) vs systemic antibiotic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment in chronic periodontitis. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 10, 12393.
- [122] Invernici, M. M., Salvador, S. L., Silva, P. H., Soares, M. S., Casarin, R., Palioto, D. B., Souza, S.L., Taba Jr, M., Novaes Jr, A.B., Furlaneto, F.A. and Messoria, M.R. (2018). Effects of *Bifidobacterium probiotic* on the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, 1198-1210.

- [123] Ivanovski, S. (2009). Periodontal regeneration. *Australian Dental Journal*, 54, 118-128.
- [124] Jansson, H., Wahlin, Å., Johansson, V., Åkerman, S., Lundegren, N., Isberg, P. and Norderyd, O. (2014). Impact of periodontal disease experience on oral health-related quality of life. *Journal of Periodontology*, 85: 438-445
- [125] Jenkins, W. M., Said, S. H., Radvar, M. and Kinane, D. F. (2000). Effect of subgingival scaling during supportive therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 27, 590-596.
- [126] Jentsch, H., Knöfler, G. U., Purschwitz, R. E. and Eick, S. (2016). Periodontal dressing as an adjunct after scaling and root planing--a useful preventive tool? *Oral Health & Preventive Dentistry*, 14.
- [127] Jentsch, H. and Purschwitz, R. (2008). A clinical study evaluating the treatment of supra-alveolar-type defects with access flap surgery with and without an enamel matrix protein derivative: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 713-718.
- [128] Jenzsch, A., Eick, S., Rassoul, F., Purschwitz, R. and Jentsch, H. (2008). Nutritional intervention in patients with periodontal disease: clinical, immunological and microbiological variables during 12 months. *British Journal of Nutrition*, 101, 879-885.
- [129] Jepsen, S., Deschner, J., Braun, A., Schwarz, F. and Eberhard, J. (2011). Calculus removal and the prevention of its formation. *Periodontology 2000*, 55, 167-188.
- [130] Jiang, J., Safavi, K. E., Spangberg, L. S. and Zhu, Q. (2001). Enamel matrix derivative prolongs primary osteoblast growth. *Journal of Endodontics*, 27, 110-112.

- [131] Jordan, R. A., Bodechtel, C., Hertrampf, K., Hoffmann, T., Kocher, T., Nitschke, I., Schiffner, U., Stark, H., Zimmer, S. and Micheelis, W. (2014). The Fifth German Oral Health Study (Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie, DMS V) – rationale, design, and methods. *BMC Oral Health*, 14, 161.
- [132] Joss, A., Adler, R. and Lang, N. P. (1994). Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *Journal of Clinical Periodontology*, 21, 402-408.
- [133] Kamma, J. J., Giannopoulou, C., Vasdekis, V. G. and Mombelli, A. (2004). Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis: influence of smoking and stress. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 894-902.
- [134] Karima, M. M., and Van Dyke, T. E. (2012). Enamel matrix derivative promotes superoxide production and chemotaxis but reduces matrix metalloproteinase-8 expression by polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Periodontology*, 83, 780-786.
- [135] Katz, J., Chaushu, G. and Sgan-Cohen, H. D. (2000). Relationship of blood glucose level to community periodontal index of treatment needs and body mass index in a permanent Israeli military population. *Journal of Periodontology*, 71, 1521-1527.
- [136] Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L. and Marcenes, W. (2014). Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *Journal of Dental Research*, 93, 1045-1053.
- [137] Kawase, T., Okuda, K. , Momose, M., Kato, Y., Yoshie, H. and Burns, D. M. (2001). Enamel matrix derivative (Emdogain®) rapidly stimulates phosphorylation of the MAP kinase family and nuclear accumulation of smad2 in both oral epithelial and fibroblastic human cells. *Journal of Periodontal Research*, 36, 367-376.

- [138] Kebschull, M., Guarnieri, P., Demmer, R. T., Boulesteix, A. L., Pavlidis, P. and Papapanou, P. N. (2013). Molecular differences between chronic and aggressive periodontitis. *Journal of Dental Research*, 92, 1081-1088.
- [139] Khedmat, S., Hadjati, J., Iravani, A. and Nourizadeh, M. (2010). Effects of enamel matrix derivative on the viability, cytokine secretion, and phagocytic activity of human monocytes. *Journal of Endodontics*, 36, 1000-1003.
- [140] Kinane, D. F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 25, 8-20.
- [141] Kolliyavar, B., Shettar, L. and Thakur, S. (2016). Chlorhexidine: The gold standard mouth wash. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 6, 106-109.
- [142] Konopka, Ł., Pietrzak, A. and Brzezińska-Błaszczyk, E. (2012). Effect of scaling and root planing on interleukin-1 β , interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research*, 47, 681-688.
- [143] König, J., Schwahn, C., Fanghänel, J., Plötz, J., Hoffmann, T. and Kocher, T. (2008). Repeated scaling versus surgery in young adults with generalized advanced periodontitis. *Journal of Periodontology*, 79, 1006-1013.
- [144] Knight, E. T., Liu, J., Seymour, G. J., Faggion, C. M. and Cullinan, M. P. (2016). Risk factors that may modify the innate and adaptive immune responses in periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 71, 22-51.
- [145] Knöfler, G. U., Purschwitz, R. E. and Jentsch, H. (2007). Clinical evaluation of partial- and full-mouth scaling in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 78, 2135-2142.

- [146] Kuru, L., Griffiths, G. S., Petrie, A. and Olsen, I. (2004). Changes in transforming growth factor- β 1 in gingival crevicular fluid following periodontal surgery. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 527-533.
- [147] Kuula, H., Salo, T., Pirilä, E., Tuomainen, A. M., Jauhiainen, M., Uitto, V. J., Tjäderhane, L., Pussinen P. J. and Sorsa, T. (2009). Local and systemic responses in matrix metalloproteinase 8-deficient mice during *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis. *Infection and Immunity*, 77, 850-859.
- [148] Laaksonen, M., Salo, T., Vardar-Sengul, S., Atilla, G., Han Saygan, B., Simmer, J. P., Baylas, H. and Sorsa, T. (2010). Gingival crevicular fluid can degrade Emdogain and inhibit Emdogain-induced proliferation of periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Periodontal Research*, 45, 353-360.
- [149] Laine, M. L., Crielaard, W. and Loos, B. G. (2012). Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontology 2000*, 58, 37-68.
- [150] Laine, M. L., Moustakis, V., Koumakis, L., Potamias, G. and Loos, B. G. (2013). Modeling susceptibility to periodontitis. *Journal of Dental Research*, 92, 45–50.
- [151] Laleman, I., Cortellini, S., De Winter, S., Rodriguez Herrero, E., Dekeyser, C., Quirynen, M. and Teughels, W. (2017). Subgingival debridement: end point, methods and how often? *Periodontology 2000*, 75, 189-204.
- [152] Lamont, R. J. and Hajishengallis, G. (2015). Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends in Molecular Medicine*, 21, 172-183.
- [153] Lang, N. P., Adler, R., Joss, A. and Nyman, S. (1990). Absence of bleeding on probing An indicator of periodontal stability. *Journal of Clinical Periodontology*, 17, 714-721.
- [154] Lang, N.P. and Bartold, P.M. (2018). Periodontal health. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, 9-16.

- [155] Lang, N. P., Nyman, S., Senn, C. and Joss, A. (1991). Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health. *Journal of Clinical Periodontology*, 18, 257-261.
- [156] Lang, N. P. and Tonetti, M. S. (1996). Periodontal diagnosis in treated periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 240-250.
- [157] Lang, N. P. and Tonetti, M. S. (2003). Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health And Preventive Dentistry*, 1, 7-16.
- [158] Lee, J. H., Park, Y. S., Kim, Y. T., Kim, D. H. and Jeong, S. N. (2019). Assessment of early discomfort and wound healing outcomes after periodontal surgery with and without enamel matrix derivative: an observational retrospective case-control study. *Clinical Oral Investigations*, 1-9.
- [159] Lertpimonchai, A., Rattanasiri, S., Arj-Ong Vallibhakara, S., Attia, J. and Thakkestian, A. (2017). The association between oral hygiene and periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *International Dental Journal*, 67, 332-343.
- [160] Lesaffre, E., Philstrom, B., Needleman, I. and Worthington, H. (2009). The design and analysis of split-mouth studies: what statisticians and clinicians should know. *Statistics in Medicine*, 28, 3470-3482.
- [161] Lindhe, J., Westfelt, E., Nyman, S., Socransky, S. S. and Haffajee, A. D. (1984). Long-term effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 11, 448-458.
- [162] Lindhe, J., Westfelt, E., Nyman, S., Socransky, S. S., Heijl, L. and Bratthall, G. (1982). Healing following surgical non-surgical treatment of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 9, 115-128.
- [163] Listgarten, M. A. (1986). Pathogenesis of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 418-425.

- [164] Löe, H., Anerud, A., Boysen, H. and Morrison, E. (1986). Natural history of periodontal disease in man. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 431-440.
- [165] Loos, B. G., Papantonopoulos, G., Jepsen, S. and Laine, M. L. (2015). What is the contribution of genetics to periodontal risk? *Dental Clinics of North America*, 59, 761-780.
- [166] Lu, H., Zhao, Y., Feng, X., He, L. and Meng, H. (2019). Microbiome in maintained periodontitis and its shift over a single maintenance interval of three months. *Journal of Clinical Periodontology*.
- [167] Lundin, M., Yucel-Lindberg, T., Dahllöf, G., Marcus, C. and Modeer, T. (2004). Correlation between TNFa in gingival crevicular fluid and body mass index in obese subjects. *Acta Odontologica Scandinavica*, 62, 273-277.
- [168] Lyngstadaas, S. P., Wohlfahrt, J. C., Brookes, S. J., Paine, M. L., Snead, M. L. and Reseland, J. E. (2009). Enamel matrix proteins; old molecules for new applications. *Orthodontics & Craniofacial Research*, 12, 243-253.
- [169] Maekawa, T., Briones, R. A., Resuello, R. R., Tuplano, J. V., Hajishengallis, E., Kajikawa, T., Koutsogiannaki, S., Garcia, C. A., Ricklin, D., Lambris, J. D. and Hajishengallis, G. (2016). Inhibition of pre-existing natural periodontitis in non-human primates by a locally administered peptide inhibitor of complement C3. *Journal of Clinical Periodontology*, 43, 238-249.
- [170] Mann, W. V. (1963). The correlation of gingivitis pocket depth and exudate from the gingival crevice. *The Journal of Periodontology*, 34, 379-387.
- [171] Maciejczyk, M., Pietrzykowska, A., Zalewska, A., Knas, M. and Daniszewska, I. (2016). The significance of matrix metalloproteinases in oral diseases. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 25, 383-390.
- [172] Martin, P. (1997). Wound healing - aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276, 75-81.

- [173] Matuliene, G., Pjetursson, B. E., Salvi, G. E., Schmidlin, K., Brägger, U., Zwahlen, M. and Lang, N. P. (2008). Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: Results after 11 years of maintenance. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 685-695.

- [174] McDevitt, M. J., Wang, H. , Knobelmann, C. , Newman, M. G., di Giovine, F. S., Timms, J. , Duff, G. W. and Kornman, K. S. (2000). Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *Journal of Periodontology*, 71, 156-163.

- [175] McGuire, M. K., Scheyer, E. T. and Schupbach, P. (2016). A prospective, case-controlled study evaluating the use of enamel matrix derivative on human buccal recession defects: a human histologic examination. *Journal of Periodontology*, 87, 645-653.

- [176] Mei, C. C., Lee, F. Y., Yeh, H.C. (2016). Assessment of pain perception following periodontal and implant surgeries. *Journal of Clinical Periodontology*, 43, 1151–1159.

- [177] Mendonça, A. C., Santos, V. R., Ribeiro, F. V., Lima, J. A., Miranda, T. S., Feres, M. and Duarte, P. M. (2012). Surgical and non-surgical therapy with systemic antimicrobials for residual pockets in type 2 diabetics with chronic periodontitis: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 39, 368-376.

- [178] Mdala, I., Olsen, I., Haffajee, A. D., Socransky, S. S., Thoresen, M. and de Blasio, B. F. (2014). Comparing clinical attachment level and pocket depth for predicting periodontal disease progression in healthy sites of patients with chronic periodontitis using multi-state Markov models. *Journal of Clinical Periodontology*, 41, 837-845.

- [179] Meyle, J. and Chapple, I. (2015), Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000*, 69: 7-17. doi:10.1111/prd.12104

- [180] Miremadi, S. R., De Bruyn, H., Steyaert, H., Princen, K., Sabzevar, M. M. and Cosyn, J. (2014). A randomized controlled trial on immediate surgery versus root planing in patients with advanced periodontal disease: a cost-effectiveness analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 41, 164-171.

- [181] Miron, R. J., Guillemette, V., Zhang, Y., Chandad, F. and Sculean, A. (2014). Enamel matrix derivative in combination with bone grafts: a review of the literature. *Quintessence International*, 45, 475-87.

- [182] Miron, R. J., Sculean, A., Cochran, D. L., Froum, S., Zucchelli, G., Nemcovsky, C., Donos, N., Lyngstadaas, S. P., Deschner, J., Dard, M. and Stavropoulos, A. (2016). Twenty years of enamel matrix derivative: the past, the present and the future. *Journal of Clinical Periodontology*, 43, 668-683.

- [183] Mize, T. W., Sundararaj, K. P., Leite, R. S. and Huang, Y. (2015). Increased and correlated expression of connective tissue growth factor and transforming growth factor beta 1 in surgically removed periodontal tissues with chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 50, 315-319.

- [184] Mombelli, A., Brochut, P., Plagnat, D., Casagni, F. and Giannopoulou, C. (2005). Enamel matrix proteins and systemic antibiotics as adjuncts to non-surgical periodontal treatment: clinical effects. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 225-230.

- [185] Morand, D. N., Davideau, J. L., Clauss, F., Jessel, N., Tenenbaum, H. and Huck, O. (2017). Cytokines during periodontal wound healing: potential application for new therapeutic approach. *Oral Diseases*, 23, 300-311.

- [186] Morrison, E. C., Lang, N. P., Löe, H. and Ramfjord, S. P. (1979). Effects of repeated scaling and root planing and/or controlled oral hygiene on the periodontal attachment level and pocket depth in beagle dogs. *Journal of Periodontal Research*, 14, 428-437.

- [187] Murakami, S., Mealey, B. L., Mariotti, A., Chapple, I. L. C. (2018). Dental plaque–induced gingival conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, 17-27.

- [188] Myhre, A. E., Lyngstadaas, S. P., Dahle, M. K., Stuestøl, J. F., Foster, S. J., Thiernemann, C., Lilleaasen, P., Wang, J. E. and Aasen, A. O. (2006). Anti-inflammatory properties of enamel matrix derivative in human blood. *Journal of Periodontal Research*, 41, 208-213.
- [189] Nair, P., Sutherland, G., Palmer, R. M., Wilson, R. F. and Scott, D. A. (2003). Gingival bleeding on probing increases after quitting smoking. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 435-437.
- [190] Nalawade, T. M., Bhat, K. and Sogi, S. H. (2015). Bactericidal activity of propylene glycol, glycerine, polyethylene glycol 400, and polyethylene glycol 1000 against selected microorganisms. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 5, 114.
- [191] Nociti, F. H., Casati, M. Z. and Duarte, P. M. (2015). Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontology 2000*, 67, 187-210.
- [192] Nokhbehshaim, M., Deschner, B., Winter, J., Bourauel, C., Jäger, A., Jepsen, S. and Deschner, J. (2012). Anti-inflammatory effects of EMD in the presence of biomechanical loading and interleukin-1 β in vitro. *Clinical Oral Investigations*, 16, 275-283.
- [193] Nokhbehshaim, M., Winter, J., Rath, B., Jäger, A., Jepsen, S. and Deschner, J. (2011). Effects of enamel matrix derivative on periodontal wound healing in an inflammatory environment in vitro. *Journal of Clinical Periodontology*, 38, 479-490.
- [194] Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J. and Plantén, S. (1980). Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. *Journal of Clinical Periodontology*, 7, 394-401.
- [195] Oberoi, S. S., Dhingra, C., Sharma, G. and Sardana, D. (2015). Antibiotics in dental practice: how justified are we. *International Dental Journal*, 65, 4-10.

- [196] Octavia, M., Soeroso, Y., Kemal, Y., Sunarto, H. and Bachtiar, B. M. (2018). Microbial effects (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*) after scaling and root planing. Journal of Physics: Conference Series, 1073.
- [197] Olitzky, I. (1965). Antimicrobial properties of a propylene glycol based topical therapeutic agent. Journal of Pharmaceutical Sciences, 54, 787-788.
- [198] Okuda, K., Miyazaki, A., Momose, M., Murata, M., Nomura, T., Kubota, T., Wolff, L. F. and Yoshie, H. (2001). Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinases-1 and -8 in gingival crevicular fluid following treatment with enamel matrix derivative (Emdogain®). Journal of Periodontal Research, 36, 309-316.
- [199] Ouyang, W., Rutz, S., Crellin, N. K., Valdez, P. A. and Hymowitz, S. G. (2011). Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. Annual Review of Immunology, 29, 71-109.
- [200] Özçaka, Ö., Bıçakcı, N., Pussinen, P., Sorsa, T., Köse, T. and Buduneli, N. (2011). Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. Oral Diseases, 17, 68-76.
- [201] Page, R. C. and Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. Periodontology 2000, 14, 9-11.
- [202] Palosaari, H., Wahlgren, J., Larmas, M., Rönkä, H., Sorsa, T., Salo, T. and Tjäderhane, L. (2000). The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF- β 1. Journal of Dental Research, 79, 77-84.
- [203] Papapanou, P. N., Neiderud, A., Sandros, J. and Dahlén, G. (2001). Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. Journal of Clinical Periodontology, 28, 389-396.

- [204] Passoja, A., Puijola, I., Knuuttila, M., Niemelä, O., Karttunen, R., Raunio, T. and Tervonen, T. (2010). Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor- α in chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 37, 881-887.
- [205] Pepelassi, E. A., Tsiklakis, K. and Diamanti-Kipioti, A. (2000). Radiographic detection and assessment of the periodontal endosseous defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 27, 224-230.
- [206] Perry, D. J., Noakes, T. J. C. and Helliwell, P. S. (2007). Guidelines for the management of patients on oral anticoagulants requiring dental surgery. *British Dental Journal*, 203, 389.
- [207] Petersilka, G. J., Ehmke, B. and Flemmig, T. F. (2002). Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontology 2000*, 28, 56-71.
- [208] Phillips, C., White, R. P. Jr., Shugars, D. A., Zhou, X. (2003). Risk factors associated with prolonged recovery and delayed healing after third molar surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 61, 1436–1448.
- [209] Pihlstrom, B. L., McHuon, R. B., Oliphant, T. H. and Ortiz-Campos, C. (1983). Comparison of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. A review of current studies and additional results after 6 1/2 years. *Journal of Clinical Periodontology*, 10, 524-541.
- [210] Plessas, A. (2014). Nonsurgical periodontal treatment: review of the evidence. *Oral Health and Dental Management*, 13, 71-80.
- [211] Polimeni, G., Xiropaidis, A. V. and Wikesjö, U. M. (2006). Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontology 2000*, 41, 30-47.
- [212] Pretzl, B., Sälzer, S., Ehmke, B., Schlagenhaut, U., Dannewitz, B., Dommisch, H., Eickholz, P. and Jockel-Schneider, Y. (2018). Administration of systemic antibiotics during non-surgical periodontal therapy - a consensus report. *Clinical Oral Investigations*, 23, 3073-3085.

- [213] Pretzl, B. , Wiedemann, D. , Cosgarea, R. , Kaltschmitt, J. , Kim, T. , Staehle, H. and Eickholz, P. (2009). Effort and costs of tooth preservation in supportive periodontal treatment in a German population. *Journal of Clinical Periodontology*, 36, 669-676.
- [214] Quirynen, M., Mongardini, C., Soete, M., Pauwels, M., Coucke, W., Eldere, J. and Steenberghe, D. (2000). The role of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients with advanced adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 27, 578-589.
- [215] Ramseier, C. A., Kinney, J. S., Herr, A. E., Braun, T., Sugai, J. V., Shelburne, C. A., Rayburn, L. A., Tran, H. M., Singh, A. K. and Giannobile, W. V. (2009). Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 80, 436-446.
- [216] Ramseier, C. A., Mirra, D., Schütz, C., Sculean, A., Lang, N. P., Walter, C., Salvi, G. E. (2015). Bleeding on probing as it relates to smoking status in patients enrolled in supportive periodontal therapy for at least 5 years. *Journal of Clinical Periodontology*, 42, 150-159.
- [217] Rapp, G. E., Zuza, E. P., Neto, C. B. and Mendes, A. J. (2003). Reliability of bleeding and non-bleeding on probing to gingival histological features. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 5, 71-76.
- [218] Roberts, F. A. and Darveau, R. P. (2015). Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. *Periodontology 2000*, 69, 18-27.
- [219] Rosa, E. F., Corraini, P., Inoue, G., Gomes, E. F., Guglielmetti, M. R., Sanda, S. R., Lotufo, J. P. B., Romito, G. A. and Pannuti, C. M. (2014). Effect of smoking cessation on non-surgical periodontal therapy: results after 24 months. *Journal of Clinical Periodontology*, 41, 1145-1153.

- [220] Rowshani, B., Timmerman, M. F. and Van der velden, U. (2004). Plaque development in relation to the periodontal condition and bacterial load of the saliva. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 214-218.
- [221] Royzman, D., Recio, L., Badovinac, R. L., Fiorellini, J., Goodson, M., Howell, H. and Karimbux, N. (2004). The effect of aspirin intake on bleeding on probing in patients with gingivitis. *Journal of Periodontology*, 75, 679-684.
- [222] Safkan-Seppälä, B., Sorsa, T., Tervahartiala, T., Beklen, A. and Kontinen, Y. T. (2006). Collagenases in gingival crevicular fluid in type 1 diabetes mellitus. *Journal of Periodontology*, 77, 189-194.
- [223] Saito, T., Shimazaki, Y. and Sakamoto, M. (1998). Obesity and periodontitis. *New England Journal of Medicine*, 339, 482-483.
- [224] Sanz, I., Alonso, B., Carasol, M., Herrera, D. and Sanz, M. (2012). Nonsurgical treatment of periodontitis. *Journal of Evidence Based Dental Practice*, 12, 76-86.
- [225] Sanz, M., Beighton, D., Curtis, M. A., Cury, J. A., Dige, I., Dommisch, H., Ellwood, R., Giacaman, R. A., Herrera, D., Herzberg, M. C. and Könönen, E. (2017). Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 44, 5-11.
- [226] Scarel-Caminaga, R. M., Trevilatto, P. C., Souza, A. P., Brito, R. B., Camargo, L. E. and Line, S. R. (2004). Interleukin-10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 443-448.
- [227] Schrodi, J., Recio, L., Fiorellini, J., Howell, H., Goodson, M. and Karimbux, N. (2002). The effect of aspirin on the periodontal parameter bleeding on probing. *Journal of Periodontology*, 73, 871-876.

- [228] Sculean, A., Berakdar, M., Willershausen, B., Arweiler, N. B., Becker, J. and Schwarz, F. (2006). Effect of EDTA root conditioning on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative. *Journal of Periodontology*, 77, 1167-1172.
- [229] Sculean, A., Chiantella, G. C., Windisch, P. and Donos, N. (2000). Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative (Emdogain®). *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, 20.
- [230] Sculean, A., Donos, N., Windisch, P., Brex, M., Gera, I., Reich, E. and Karring, T. (1999). Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. *Journal of Periodontal Research*, 34, 310-322.
- [231] Sculean, A., Gruber, R. and Bosshardt, D.D. (2014). Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *Journal of Clinical Periodontology*, 41, 6-22.
- [232] Sculean, A., Schwarz, F., Becker, J. and Brex, M. (2007). The application of an enamel matrix protein derivative (Emdogain®) in regenerative periodontal therapy: a review. *Medical Principles and Practice*, 16, 167–180.
- [233] Sculean, A., Windisch, P., Keglevich, T. and Gera, I. (2003). Histologic evaluation of human intrabony defects following non-surgical periodontal therapy with and without application of an enamel matrix protein derivative. *Journal of Periodontology*, 74, 153-160.
- [234] Seinost, G., Wimmer, G., Skerget, M., Thaller, E., Brodmann, M., Gasser, R., Bratschko, R. O and Pilger, E. (2005). Periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with severe periodontitis. *American Heart Journal*, 149, 1050-1054.

- [235] Serino, G., Rosling, B., Ramberg, P., Socransky, S. S. and Lindhe, J. (2001). Initial outcome and long-term effect of surgical and non-surgical treatment of advanced periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 28, 910-916.
- [236] Shi, M., Wei, Y., Hu, W., Nie, Y., Wu, X. and Lu, R. (2018). The subgingival microbiome of periodontal pockets with different probing depths in chronic and aggressive periodontitis: a pilot study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, 124.
- [237] Shiau, H. J. and Reynolds, M. A. (2010). Sex differences in destructive periodontal disease: exploring the biologic basis. *Journal of Periodontology*, 81, 1505-1517.
- [238] Shlossman, M., Knowler, W. C., Pettitt, D. J. and Genco, R. J. (1990). Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. *The Journal of the American Dental Association*, 121, 532-536.
- [239] Sigusch, B., Beier, M., Klinger, G., Pfister, W. and Glockmann, E. (2001). A 2-step non-surgical procedure and systemic antibiotics in the treatment of rapidly progressive periodontitis. *Journal of Periodontology*, 72, 275-283.
- [240] Simpson, T. C., Weldon, J. C., Worthington, H. V., Needleman, I., Wild, S. H., Moles, D. R., Stevenson, B., Furness, S. and Iheozor-Ejiofor, Z. (2015). Treatment of periodontal disease for glycaemic control in people with diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11, CD004714.
- [241] Singh, Y., Ahmad, J., Musarrat, J., Ehtesham, N. Z. and Hasnain, S. E. (2013). Emerging importance of holobionts in evolution and in probiotics. *Gut Pathogens*, 5, 12.
- [242] Skalerič, U., Kramar, B., Petelin, M., Pavllia, Z. and Wahl, S. M. (1997). Changes in TGF- β 1 levels in gingiva, crevicular fluid and serum associated with periodontal inflammation in humans and dogs. *European Journal of Oral Sciences*, 105, 136-142.

- [243] Smiley, C. J., Tracy, S. L., Abt, E., Michalowicz, B. S., John, M. T., Gunsolley, J., Cobb, C.M., Rossmann, J., Harrel, S. K., Forrest, J. L. and Hujoel, P. P. (2015). Evidence-based clinical practice guideline on the nonsurgical treatment of chronic periodontitis by means of scaling and root planing with or without adjuncts. *The Journal of the American Dental Association*, 146, 525-535.
- [244] Smith, M., Seymour, G. J. and Cullinan, M. P. (2010). Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, 53, 45-54.
- [245] Spahr, A., Lyngstadaas, S. P., Boeckh, C., Andersson, C., Podbielski, A. and Haller, B. (2002). Effect of the enamel matrix derivative Emdogain® on the growth of periodontal pathogens in vitro. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 62-72.
- [246] Staab, B., Eick, S., Knöfler, G. and Jentsch, H. (2009). The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology*, 36, 850-856.
- [247] Stabholz, A., Soskolne, W. A. and Shapira, L. (2010). Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, 53, 138-153.
- [248] Stańdo, M. and Lewkowicz, N. (2019). Omega-3 polyunsaturated fatty acids as an adjunct to non-surgical treatment of periodontitis. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 1800345.
- [249] Stein, S. H., Green, B. E. and Scarbecz, M. (2004). Augmented transforming growth factor- β 1 in gingival crevicular fluid of smokers with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 75, 1619-1626.
- [250] Suchetha, A., Tanwar, E., Darshan, B. M. and Bhat, A. S. D. (2018). Post-operative complications after periodontal surgery. *Anxiety*, 15, 16.

- [251] Suzuki, S., Nagano, T., Yamakoshi, Y., Gomi, K., Arai, T., Fukae, M., Katagiri, T. and Oida, S. (2005). Enamel matrix derivative gel stimulates signal transduction of BMP and TGF- β . *Journal of Dental Research*, 84, 510-514.
- [252] Sumer, A. P., Kara, N., Keles, G. C., Gunes, S., Koprulu, H., & Bagci, H. (2007). Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. *Journal of periodontology*, 78, 493-497.
- [253] Swierkot, K., Nonnenmacher, C. I., Mutters, R., Flores-de-Jacoby, L. and Mengel, R. (2009). One-stage full-mouth disinfection versus quadrant and full-mouth root planing. *Journal of Clinical Periodontology*, 36, 240-249.
- [254] Tamura, H., Maekawa, T., Domon, H., Hiyoshi, T., Yonezawa, D., Nagai, K., Ochiai, A., Taniguchi, M., Tabeta, K., Maeda, T. and Terao, Y. (2019). Peptides from rice endosperm protein restrain periodontal bone loss in mouse model of periodontitis. *Archives of Oral Biology*, 98, 132-139.
- [255] Tettamanti, L., Gaudio, R. M., Iapichino, A., Mucchi, D., Tagliabue, A. (2017). Genetic susceptibility and periodontal disease: a retrospective study on a large italian sample. *Oral & Implantology*, 10, 20-27.
- [256] Sorsa, T., Tervahartiala, T., Leppilahti, J., Hernandez, M., Gamonal, J., Tuomainen, A. M., Lauhio, A., Pussinen, P. J. and Mäntylä, P. (2011). Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacological Research*, 63, 108-113.
- [257] Teles, R. P., Haffajee, A. D. and Socransky, S. S. (2006). Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 42, 180-218.
- [258] Tirone, F. and Salzano, S. (2016). Clinical attachment level gain and three-year maintenance of a maxillary incisor with 100% bone loss: a case report. *Quintessence International*, 47, 483-490.

- [259] Toker, H. , Poyraz, O. and Eren, K. (2008). Effect of periodontal treatment on IL-1 β , IL-1ra, and IL-10 levels in gingival crevicular fluid in patients with aggressive periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 35, 507-513.
- [260] Tonetti, M.S., Eickholz, P., Loos, B. G., Papapanou, P., Velden, U., Armitage, G., Bouchard, P., Deinzer, R., Dietrich, T., Hughes, F., Kocher, T., Lang, N. P., Lopez, R., Needleman, I., Newton, T., Nibali, L., Pretzl, B., Ramseier, C., Sanz-Sanchez, I., Schlagenhauf, U., Suvan, J. E., Fabrikant, E., Fundak, A. (2015). Principles in prevention of periodontal diseases - consensus report of group 1 of the 11th European workshop on periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 42, 5-11.
- [261] Tonetti, M. S., Greenwell, H., Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, 149-161.
- [262] Trindade, F., Oppenheim, F. G., Helmerhorst, E. J., Amado, F., Gomes, P. S. and Vitorino, R. (2014). Uncovering the molecular networks in periodontitis. *PROTEOMICS - Clinical Applications*, 8, 748-761.
- [263] Trombelli, L., Rizzi, A., Simonelli, A., Scapoli, C., Carrieri, A. and Farina, R. (2010). Age-related treatment response following non-surgical periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 37, 346-352.
- [264] Tuomainen, A. M., Nyssönen, K., Laukkanen, J.A., Tervahartiala, T., Tuomainen, T. P., Salonen, J. T., Sorsa, T. and Pussinen, P. J. (2007). Serum matrix metalloproteinase-8 concentrations are associated with cardiovascular outcome in men. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27, 2722-2728.
- [265] Van der Weijden, G. A. and Timmerman, M. F. (2002). A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 55-71.

- [266] Van der Weijden, G. A., Timmerman, M. F., Nijboer, A., Reijerse, E. and Van der Velden, U. (1994). Comparison of different approaches to assess bleeding on probing as indicators of gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 21, 589-594.
- [267] Vaquette, C., Pilipchuk, S. P., Bartold, P. M., Hutmacher, D. W., Giannobile, W. V. and Ivanovski, S. (2018). Tissue engineered constructs for periodontal regeneration: current status and future perspectives. *Advanced Healthcare Materials*, 7, 1800457.
- [268] Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40, 277.
- [269] Vikram, V., Ramakrishnan, T., Anilkumar, K. and Ambalavanan, N. (2015). Changes in transforming growth factor- β 1 in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis following periodontal flap surgery. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9, ZC13.
- [270] Villa, O., Wohlfahrt, J. C., Koldslund, O. C., Brookes, S. J., Lyngstadaas, S. P., Aass, A. M. and Reseland, J. E. (2016). EMD in periodontal regenerative surgery modulates cytokine profiles: a randomised controlled clinical trial. *Scientific Reports*, 6, 23060.
- [271] Villar, C. C. and Cochran, D. L. (2010). Regeneration of periodontal tissues: guided tissue regeneration. *Dental Clinics*, 54, 73-92.
- [272] Vogt-Ferrier, N. (2011). Older patients, multiple comorbidities, polymedication... should we treat everything? *European Geriatric Medicine*, 2, 48-51.
- [273] Wachtel, H. , Schenk, G. , Böhm, S. , Weng, D. , Zuhr, O. and Hürzeler, M. B. (2003). Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 496-504.

- [274] Wahl, M. J., Pinto, A., Kilham, J. and Lalla, R. V. (2015). Dental surgery in anticoagulated patients - stop the interruption. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 119, 136-157.
- [275] Wahl, S. M., Costa, G. L., Mizel, D. E., Allen, J. B., Skaleric, U. and Mangan, D. F. (1993). Role of transforming growth factor beta in the pathophysiology of chronic inflammation. *Journal of Periodontology*, 64, 450-455.
- [276] Wang, X. J., Han, G., Owens, P., Siddiqui, Y. and Li, A. G. (2006). Role of TGF β -mediated inflammation in cutaneous wound healing. In *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 11, 112-117.
- [277] Weinreb, M. and Nemcovsky, C. E. (2015). In vitro models for evaluation of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontology 2000*, 68, 41-54.
- [278] Wennström, J. L. and Lindhe, J. (2002). Some effects of enamel matrix proteins on wound healing in the dento-gingival region. *Journal of Clinical Periodontology*, 29, 9-14.
- [279] Wong, H. C., Ooi, Y., Pulikkotil, S. J. and Naing, C. (2018). The role of three interleukin 10 gene polymorphisms (- 1082 A> G,- 819 C> T,- 592 A> C) in the risk of chronic and aggressive periodontitis: a meta-analysis and trial sequential analysis. *BMC Oral Health*, 18, 171.
- [280] Yilmaz, S., Kuru, B. and Altuna-Kıraç, E. (2003). Enamel matrix proteins in the treatment of periodontal sites with horizontal type of bone loss. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 197-206.
- [281] Khader, Y. S., Dauod, A. S., El-Qaderi, S. S., Alkafajei, A. and Batayha, W. Q. (2006). Periodontal status of diabetics compared with nondiabetics: a meta-analysis. *Journal of Diabetes and its Complications*, 20, 59-68.

- [282] Zetterström, O. , Andersson, C. , Eriksson, L. , Fredriksson, A. , Friskopp, J. , Heden, G. , Jansson, B. , Lundgren, T. , Nilveus, R. , Olsson, A. , Renvert, S. , Salonen, L. , Sjöström, L. , Winell, A. , Östgren, A. and Gestrelus, S. (1997). Clinical safety of enamel matrix derivative (Emdogain®) in the treatment of periodontal defects. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 697-704.
- [283] Zhang, T., Wang, Z., Hancock, R. E., de la Fuente-Núñez, C. and Haapasalo, M. (2016). Treatment of oral biofilms by a D-enantiomeric peptide. *PLOS ONE*, 11, e0166997.
- [284] Zhu, H., Lin, X., Zheng, P. and Chen, H. (2015). Inflammatory cytokine levels in patients with periodontitis and/or coronary heart disease. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8, 2214.
- [285] Zupin, L., Robino, A., Navarra, C. O., Pirastu, N., Di Lenarda, R., Gasparini, P., Crovella, S. and Bevilacqua, L. (2017). LTF and DEFB 1 polymorphisms are associated with susceptibility toward chronic periodontitis development. *Oral Diseases*, 23, 1001-1008.

Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

Danksagung

Zunächst gebührt mein Dank vor allem Herrn Professor Dr. med. Dr. h. c. Holger Jentsch für das Überlassen des Promotionsthemas nach Durchführung der Versuche und Untersuchungen, sowie für seine hervorragende und fürsorgliche Betreuung.

Ebenso möchte ich mich bei Frau Professor Dr. med. dent. Sigrun Eick für ihre biochemische und statistische Analyse sowie ihre fachliche Unterstützung bedanken.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. med. dent. Tino Schütz für die Bereitstellung seiner Praxis im Rahmen der klinischen Untersuchung und Behandlung der Probanden. Diesen gebührt ebenso mein Dank für ihr Einverständnis an dieser Studie teilzunehmen.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie, meinen Freunden und (ehemaligen) Kollegen bedanken, die mich in der Zeit der Schaffung der Dissertation stets unterstützt und motiviert haben.

Diese Arbeit widme ich meiner Mutter und Tarek.